Renato Dulbecco
La mappa della vita
(*2005*)

L'interpretazione del codice genetico:
una rivoluzione scientifica
al servizio dell'umanitè

NUOVA EDIZIONE AMPLIATA

VISIT…

Il Progetto Genoma

Introduzione

Il Progetto Genoma è stato una grande avventura. È cominciato come il sogno di pochi visionari, è poi stato abbracciato dall'intera comunità scientifica, e ha raggiunto i suoi obbiettivi con la cooperazione di istituzioni pubbliche e private. Questo è il vero tragitto di una grande conquista scientifica nel tempo attuale. Il segreto del suo successo comprende molti fattori. Il principale è stata la dedizione assoluta di molti scienziati, che avevano fede di poter raggiungere lo scopo malgrado la scarsezza di mezzi tecnici a disposizione. Rapidamente questi mezzi sono stati sviluppati, come tecnologie nuove e tutte automatizzate, per determinare l'organizzazione del DNA, rintracciarvi i geni, leggere i messaggi che essi contengono e i loro significati. Sono stati usati nuovi indirizzi per determinare l'attività dei geni, esplorando in un atto solo tutto il genoma. Straordinario in questo progresso è stato il contributo dell'informatica.

Il primo risultato che ora abbiamo in mano è un abbozzo, un po' approssimativo, di ciò che è scritto nel genoma, cioè la sua sequenza. Questo abbozzo ha bisogno di ulteriori perfezionamenti, che saranno completati in tempo abbastanza breve; ma, anche senza questo passaggio, le conoscenze acquisite costituiscono una vera rivoluzione.

In questo Progetto si sono studiati i geni non soltanto della specie umana, ma anche di molte altre specie: virus, batteri, lieviti, animali dai più semplici ai più complicati e piante. Il risultato stupefacente è che tutte queste specie sono connesse tra di loro perché i loro geni sono molto simili. Perciò è chiaro che tutti gli esseri viventi sono parte di uno stesso mondo, con caratteristiche diverse determinate dall'evoluzione.

Un altro elemento straordinario è che i risultati del Progetto hanno rovesciato il modo di pensare ai geni. Fino a un anno fa li si riteneva elementi indipendenti del genoma, che si dovevano studiare uno per uno per capire cosa facevano e per determinare il loro ruolo nel funzionamento degli organismi viventi. Poi, improvvisamente, studiando i risultati del Progetto, si è visto che ciò non era vero: i geni lavorano insieme in grandi

complessi, ciascuno destinato a una funzione specifica. La visione del gene isolato persiste in alcuni casi, ma è ora inserita nella visione globale dei complessi di geni. Questo cambia moltissimo la nostra visione del ruolo dei geni nel funzionamento normale dell'organismo e nelle malattie.

Come risultato, l'individuo può ora venir considerato connesso ai suoi geni in modo estremamente preciso, completando il percorso di quel processo di caratterizzazione che è cominciato con le impronte digitali e poi si è esteso alla struttura del DNA. Ora culmina nella conoscenza dettagliata dei geni di ciascun essere umano, che va sotto il nome di Profilo Genetico Individuale. Ma tale Profilo non è solo una descrizione fisica dell'individuo: è una descrizione della sua esistenza. Esso determina le condizioni di vita più adatte per lui, i suoi rischi di malattia, quali farmaci possa usare e quali no. Perciò come risultato la sua vita sarà più tranquilla, con meno preoccupazioni per la sua salute; e tutto questo potrà anche contribuire a prolungarla.

Il concetto di malattie e di come combatterle cambia notevolmente grazie al riconoscimento della cooperazione globale dei geni. Gli sforzi diagnostici saranno diretti alle funzioni globali del genoma, per capire la natura delle malattie in cui prendono parte molti geni. Tutti gli sforzi del passato nella cura di patologie dovute a geni alterati sono stati spesso deludenti, ma ora saranno rivalutati sulla base di questo concetto. Procedure come la terapia genica saranno sviluppate, ma limitatamente a situazioni speciali, in cui l'azione di un gene è chiaramente predominante; per gli altri casi si dovranno sviluppare terapie globali, dirette a tutta una cellula o a tutto un organismo. Anche la visione del cancro evolve da quella di una malattia di pochi geni a quella di un disturbo dell'intero genoma, dirigendo la ricerca di nuove terapie in quella direzione. Le nuove terapie saranno basate sulla conoscenza dei geni e del ruolo che essi hanno nel progresso della malattia, disegnando nuovi farmaci sulla base delle conoscenze delle proteine, della loro struttura e delle loro funzioni.

La conoscenza dei nostri geni è la conoscenza di noi stessi, delle nostre origini e del ruolo dell'ambiente nel dirigere la nostra vita e la nostra personalità. Molto rimane da fare per raggiungere la conoscenza completa e dettagliata del genoma; e ancora di più per capire come esso funziona e come determina il destino dell'individuo. Ma questo processo è ormai stato avviato, e andrà avanti senza esitazioni. Il Progetto è come un razzo che è stato lanciato dopo lunghe preparazioni, ma ora è in orbita e alla fine raggiungerà il pianeta a cui è stato diretto, il pianeta uomo.

Che cos'è un gene

Il concetto di gene

È interessante osservare come si arrivò al concetto di gene. Esso fu il culmine delle conoscenze e delle speculazioni sulla struttura ereditaria degli organismi - inizialmente piante - che aumentarono con il tempo, prendendo spunto da semplici osservazioni e poi sviluppando teorie che progressivamente si avvicinarono alla realtà.

L'esistenza di caratteristiche ereditarie, cioè trasmesse da una generazione all'altra, è stata riconosciuta da lungo tempo specialmente dagli allevatori di piante e bestiame, che si sono sempre sforzati di migliorare la qualità dei loro prodotti selezionando i tipi più adatti. Nonostante ciò, lo sviluppo di modelli per spiegare come le caratteristiche vengono trasmesse cominciò solo verso la metà del XIX secolo. Charles Darwin sviluppò l'ipotesi della «pangenesi», secondo cui le cellule di una pianta o di un animale immettono nel sangue piccole particelle, i «pangeni», che poi si uniscono per formare le cellule germinali, quali gli ovociti e gli spermatozoi. In questo modo si cercava di spiegare come le caratteristiche riconoscibili in un individuo possano esser trasmesse attraverso le cellule germinali. Secondo questa teoria, se le cellule vengono alterate da danni ricevuti, anche i pangeni ne risultano alterati, per cui i caratteri acquisiti durante la vita di un individuo sarebbero trasmessi alla progenie.

La teoria continuò a esistere per parecchio tempo, con varie modificazioni. Con il riconoscimento dell'esistenza, nei nuclei delle cellule, di bastoncelli noti come «cromosomi» (dal greco antico *cromo-,* «colore», e *soma,* «corpo», perché si tingono fortemente con certi coloranti) si pensò che i pangeni fossero localizzati entro di essi, e che diventassero attivi in cellule diverse, spiegando così il fenomeno dei cambiamenti cellulari durante lo sviluppo dell'organismo, cioè la «differenziazione». In questa nuova versione della teoria, il materiale ereditario è costituito da fattori presenti in tutte le cellule, che ne

determinano le caratteristiche; le cellule germinali hanno tutti i fattori, che poi vengono distribuiti alle varie cellule dell'embrione. Secondo queste idee, le cellule germinali (gli ovociti, gli spermatozoi) contengono il «germiplasma» immortale, che viene continuamente trasmesso da una generazione all'altra; invece le cellule del corpo «somatiche» contengono il «somatoplasma», che è mortale. Questo concetto portò a rigettare l'ipotesi dell'ereditarietà dei caratteri acquisiti, in quanto risultato di cambiamenti del somatoplasma, che non è trasmesso ereditariamente.

Il primo lavoro sperimentale sull'ereditarietà di caratteristiche corporee fu fatto da Johann Gregor Mendel, e si sviluppò su questo sfondo di idee, studiando i risultati di incroci tra piante di piselli con caratteristiche diverse. La conclusione fu che ogni individuo ha un paio di «fattori» determinanti una certa caratteristica, e ne trasmette uno alla sua progenie; i fattori provenienti dai due genitori si uniscono a caso nella progenie. Le cellule germinali sono pure, hanno cioè solo un fattore, e i vari fattori non si mescolano né si contaminano l'un l'altro. Perciò l'organismo è un mosaico di tali fattori, poi indicati come «geni», un termine coniato dal botanico danese Vilhelm L. Johannsen nel 1909. Questo termine fu subito accettato dalla comunità scientifica, che aborrisce le parole comuni e ama quelle coniate sulla base del greco antico.

Questi risultati sono poi stati convalidati da molte altre osservazioni, concludendo che negli animali e nelle piante ogni cellula del corpo ha due copie di ogni gene in due cromosomi simili che sono ereditati uno dal padre e l'altro dalla madre. Le cellule germinali, sia maschili sia femminili, ricevono una copia ciascuna di ogni gene; quando si forma un nuovo organismo dalla fusione di due cellule germinali, esso riceve una copia di ciascun gene da ciascuna cellula germinale, ricostituendo la composizione delle cellule del corpo.

Un punto centrale per lo sviluppo successivo delle conoscenze genetiche è stato il lavoro di Thomas Hunt Morgan, al principio del XX secolo. All'inizio egli ripudiò le idee di Johann Mendel perché le considerava frutto di speculazioni suggerite da osservazioni che avrebbero potuto avere altre spiegazioni, e non erano assoggettabili a una verifica sperimentale. Il fatto che i cromosomi si comportavano secondo le predizioni non era ritenuto sufficiente perché era un'osservazione, non una prova sperimentale.

Sotto questo aspetto l'attitudine di Morgan rifletteva la nuova filosofia scientifica del suo tempo, che è seguita tuttora. Secondo questa filosofia

uno scienziato, in qualunque campo esso sia attivo, segue nel suo lavoro un percorso ben definito, fatto di stadi successivi. Per ognuno di questi stadi ha un obbiettivo, che può essere molto vago oppure preciso, per esempio quello di scoprire il ruolo di un gene. Egli conosce bene ciò che è già noto in quel campo, e basandosi su queste conoscenze sviluppa una nuova idea che suggerisce un'ipotesi precisa, per esempio che quel gene produce una proteina che controlla una certa caratteristica delle cellule. Lo scienziato non accetta che l'ipotesi sia vera senza prendere in considerazione altre eventuali spiegazioni; per cui va a lavorare cercando di ottenere, con esperimenti appropriati, ulteriori dati che possano confermare l'ipotesi. Se egli raggiunge un punto nel suo lavoro in cui tutti i dati sono d'accordo con l'ipotesi, questa rimane valida finché qualche nuovo dato sperimentale non la contraddica. Se questo avviene, sarà necessaria una nuova modificazione dell'ipotesi. In questo modo le conoscenze scientifiche progrediscono a gradi, sulla base di ipotesi che diventano sempre più precise. Ma la verità assoluta non si raggiunge mai. Infatti, per quanto la conoscenza di un fenomeno sia approfondita, c'è sempre la possibilità di qualche aspetto inesplorato che non sia in completo accordo con l'ipotesi su cui si basa. Finché non si scopre una discordanza, la conoscenza è accettata, ma se una discordanza viene scoperta, si deve ricorrere a una nuova modificazione.

Seguendo questo indirizzo filosofico, nel 1908 Morgan intraprese degli studi sperimentali con il moscerino della frutta, la Drosofila, che fu selezionato perché si alleva facilmente, ha un tempo di generazione corto (due settimane), per cui si può seguire per molte generazioni, e ha caratteristiche corporee facilmente riconoscibili, come il colore degli occhi o la lunghezza delle sue setole. Studiando l'effetto di cambiamenti dei cromosomi nell'espressione delle caratteristiche genetiche, Morgan confermò le idee di Mendel, aggiungendovi un gran numero di altre caratteristiche, principalmente quella di cambiamenti improvvisi, riconoscibili da modificazioni nel corpo dell'insetto, che vennero chiamati «mutazioni».

Dove sono i geni?

Per capire che cos'è un gene e come funziona, dobbiamo prima vedere come sono fatti i luoghi dove il gene esiste: le «cellule». Queste sono

minuscoli corpicciuoli tutti attaccati l'uno all'altro che costituiscono il corpo di un animale o di altri organismi. Il nome «cellula» fu usato nel 1655 dal fisico inglese Robert Hooke che, esaminando un pezzo di sughero con un microscopio primitivo, osservò che era costituito da piccoli compartimenti, che egli paragonò alle celle di un monastero. Ciò che lui vedeva non erano in realtà le vere cellule, ma le pareti di legno che le circondano nella pianta.

Possiamo perciò cominciare a porre una semplice domanda: i geni si trovano soltanto nelle cellule che mostrano gli effetti delle mutazioni, o in tutte le cellule? Per poter rispondere dobbiamo prima considerare brevemente come è fatta una cellula. È come una goccia di liquido circondata da una sottile membrana, la «membrana cellulare». La cellula può essere paragonata a una fabbrica, un edificio rotondo, coperto da un tetto e circondato da una parete solida. Nel centro dell'edificio c'è una stanza interna, il «nucleo», anch'essa completamente circondata da una membrana, la «membrana nucleare». Il nucleo contiene dei lunghi fili, in forma di coppie, il «DNA» o acido desossiribonucleico; nelle coppie un filo deriva dal padre, l'altro dalla madre. Lo spazio attorno al nucleo, il «citoplasma» è intersecato da una rete di tubi ed è pieno di scatole di forme e dimensioni differenti, che contengono macchinari di vari tipi.

Un organismo composto di molte cellule, come una pianta o un animale, è costituito come una città formata da un gran numero di edifici di questo tipo, separati da spazi ristretti, attraversati da una fitta rete di fili di plastica che li tengono insieme. I vari quartieri della città, che corrispondono ai vari organi del corpo - quali il cervello, il fegato eccetera -, contengono edifici di struttura simile, ma molto diversi per forma e dimensioni nei vari organi. La città è attraversata da canali che portano acqua e sostanze nutritive, e da tubi e cavi per le comunicazioni, che sono l'Internet del corpo.

Il corpo di una pianta o di un animale si sviluppa da una cellula, l'uovo fecondato, fino a formarne molti miliardi, perché le cellule possono dividersi, generandone ciascuna due. La divisione è preceduta da una lunga preparazione, durante la quale la cellula aumenta di volume fino a raddoppiarlo; in questo tempo si raddoppia tutto il macchinario, inclusi i fili di DNA, cosicché, dopo la divisione, le due «cellule figlie» che ne derivano sono uguali alla madre prima che questa crescesse di volume. In questo periodo preparatorio avvengono alcuni cambiamenti straordinari nella stanza centrale, il nucleo. I due fili fratelli (il DNA) cominciano ad

attorcigliarsi in modi complicati, formando delle anse sempre più strette, sino a dar luogo a dei tubi rigidi, che sono dei cromosomi doppi: ogni tubo contiene due fili fratelli completi, ciascuno derivato da uno dei fili esistenti nella cellula madre prima della divisione. Prima che la cellula si divida la membrana attorno al nucleo scompare, i tubi si separano longitudinalmente in due metà, schiudendo i due fili fratelli che vengono spinti ai due estremi della cellula, cosicché ogni cellula figlia ne riceve uno. Appena la divisione è avvenuta, una parete (la membrana nucleare) si forma attorno ai tubi, che immediatamente si dissolvono, rilasciando i fili. Così le cellule figlie sono uguali alla loro madre sotto ogni aspetto.

Localizzare i geni

In una cellula osservata al microscopio prima che sia pronta a dividersi il nucleo sembra vuoto perché i fili sono troppo sottili per essere visibili; essi però lo diventano dopo che si sono condensati nei cromosomi, poco prima della divisione della cellula. È quindi difficile studiare i cromosomi di una cellula perché sono visibili soltanto durante questo brevissimo periodo; però si sviluppò un metodo efficace, usando una sostanza che blocca il progredire della divisione cellulare oltre lo stadio in cui i cromosomi sono visibili. In questo modo si osservò che le cellule di ciascuna specie hanno un numero specifico di cromosomi: nell'uomo sono 46, nel moscerino della frutta 8. In ogni specie ciascun cromosoma ha dimensioni e forme peculiari, e può perciò essere riconosciuto e classificato. Studiandone le caratteristiche, diventò evidente che i cromosomi sono presenti in paia: uno derivato dal padre, l'altro dalla madre. Nell'uomo uno delle 23 paia di cromosomi è formato da cromosomi di forma diversa, noti come X e Y. Essi sono i «cromosomi sessuali», perché differiscono nei due sessi: nei mammiferi, e anche nel moscerino, le femmine hanno due cromosomi X, mentre i maschi ne hanno uno X e uno Y. Come vedremo, questa proprietà determina come le caratteristiche genetiche vengono trasmesse dai genitori ai figli.

Fu possibile localizzare i geni nei cromosomi del moscerino per una circostanza fortunata: in alcune cellule di questi e altri insetti i cromosomi sono molto grandi e chiaramente visibili continuamente al microscopio. Tali «cromosomi giganti» si formano perché in queste cellule i fili del DNA raddoppiano molte volte in assenza di divisione cellulare, formando

dei fasci di un migliaio di copie, tutte perfettamente allineate: è così possibile studiare dettagli della loro costituzione, che non sarebbero altrimenti visibili. Si osservò che quando avviene una mutazione, essa è spesso accompagnata da un cambiamento osservabile in uno di questi cromosomi giganti, il che appoggiò l'idea che i geni sono nei cromosomi.

Nello studio delle mutazioni si fece un'osservazione che aiutò notevolmente a capire cosa fossero i geni. Si osservò che quando si accoppiano due individui con due mutazioni differenti, per esempio un moscerino con occhi rossi (normale) e setole lunghe (anormale) e uno con occhi bianchi (anormale) e setole corte (normale), in una parte della progenie le caratteristiche sono invertite: alcune hanno occhi rossi e setole corte, altri hanno occhi bianchi e setole lunghe. Questo risultato indicò un riarrangiamento dei geni nella progenie, che venne chiamato «ricombinazione». Poi si notò che la ricombinazione è frequente per alcune coppie di geni presenti sullo stesso cromosoma, rara per altre coppie, anche dello stesso cromosoma. Queste osservazioni suggerirono che i geni possono essere a varie distanze sul cromosoma, e che uno scambio tra due geni è tanto più probabile quanto più i geni sono distanti tra di loro.

I risultati vennero confrontati con osservazioni dei cromosomi durante la divisione cellulare, che qualche volta mostrano due cromosomi dello stesso paio in forma di croce, come se si stessero scambiando delle parti. L'osservazione suggerì che la ricombinazione è dovuta allo scambio di parti tra due cromosomi dello stesso paio. Allora emerse il concetto di *linkage,* cioè la connessione tra geni presenti sullo stesso cromosoma, ma a varie distanze. La probabilità di ricombinazione tra due geni venne da allora in poi messa in relazione con la distanza tra di essi; oggi sappiamo che essa non è proprio uguale alla distanza fisica tra i due geni, perché la ricombinazione non avviene con la stessa facilità su cromosomi diversi o nei due sessi; però essa fornì un metodo molto utile, sebbene approssimativo, per determinare la localizzazione dei geni sui cromosomi.

Come è fatto il gene?

Tutte queste osservazioni, pur non chiarificando che cosa sia un gene, portarono a ritenerlo un punto su un cromosoma. Il quadro rimase immutato per parecchio tempo, ma le cose cambiarono quando gli studi di

genetica si estesero a organismi più semplici, quali virus e batteri, che dimostravano caratteristiche genetiche simili a quelle di organismi più complessi. Un risultato importante fu ottenuto con un virus che cresce nei batteri, detto «batteriofago»: osservandolo, si scoprì che due mutazioni di origine indipendente presenti nello stesso gene si possono ricombinare, sebbene raramente. Questo dimostrò che il gene non è un punto sul cromosoma, ma ha una lunghezza: è dunque un segmento del cromosoma.

Particolarmente importanti furono due altri esperimenti che mostrarono la trasmissione di caratteristiche genetiche con il DNA. Nel primo, batteri capaci di infettare e uccidere topi furono lisati (cioè distrutti e frammentati) e disciolti, e il prodotto fu separato in diverse frazioni contenenti vari componenti; ogni frazione fu mescolata con batteri della stessa specie, ma incapaci di infettare e uccidere topi. Si osservò allora che alcuni batteri innocui diventavano capaci di uccidere dopo essere stati mescolati con la frazione che conteneva il DNA estratto dal batterio uccisore. Questo suggerì che il DNA conteneva il gene capace di uccidere i topi.

Questa conclusione non fu accettata con facilità dalla comunità scientifica, per varie ragioni. A quell'epoca si pensava che il DNA fosse solo una sostanza chimica con la composizione di uno zucchero complesso; era impossibile visualizzare come esso potesse mantenere la continuità genetica attraverso varie generazioni. In realtà, è sempre difficile per la gente, scienziati compresi, accettare scoperte rivoluzionarie. Molti suggerirono che l'effetto fosse dovuto a contaminazioni presenti nella frazione che conteneva il DNA, probabilmente di proteine (una componente importante dei corpi di tutti gli esseri viventi), che si sapevano stabili e complesse, e perciò più adatte a mantenere l'informazione genetica. E siccome il DNA non era assolutamente puro, questa possibilità non poteva essere esclusa.

Molti altri esperimenti, condotti usando DNA più purificato, diedero però gli stessi risultati; eppure il dubbio persisteva. Il problema fu finalmente risolto da un secondo esperimento condotto con un batteriofago. Questo virus è formato da due parti: una contiene DNA, l'altra delle proteine. Ciascuna parte fu evidenziata con un marcatore radioattivo diverso, in modo che le due sostanze potessero esser riconosciute separatamente nella progenie del virus. Il risultato fondamentale fu che i batteri infettati dal batteriofago marcato producevano progenie in cui solo il DNA era marcato, non la proteina. Ciò

implicava chiaramente il DNA come il portatore dell'informazione genetica, perché veniva ereditato esattamente come i geni.

Assieme, i due esperimenti suggerivano fortemente che i geni sono fatti di DNA, ma non lo provavano. Questa conclusione fu rinforzata dall'osservazione che i cromosomi di organismi più complessi contengono un'elevata percentuale di DNA. Però era ancora impossibile capire come il DNA, apparentemente una sostanza di scarso interesse, potesse esercitare tale funzione.

Tutti questi studi convinsero un giovane studente all'Università dell'Indiana, James Watson, che per capire i geni, come sono fatti, come funzionano, bisognava elucidare la struttura del DNA. Dopo aver conseguito il dottorato andò in Inghilterra, a Cambridge, dove si unì a Francis Crick, un fisico specializzato nell'identificazione di strutture molecolari attraverso la diffrazione di raggi X, e ad altri ricercatori. Alla fine il gruppo determinò che il DNA è una molecola filiforme costituita da due filamenti attorcigliati l'uno attorno all'altro, che formano una doppia elica. Ciascun filamento contiene quattro «basi», A, T, G, e C (le iniziali dei loro nomi chimici, cioè adenina, timina, guanina e citosina). Un'informazione importante fu che le basi A e T sono sempre in uguali proporzioni, come anche G e C; questa regolarità fu interpretata come indicazione che nella struttura tali basi sono presenti in paia: A-T e G-C. Per questa relazione, tanto le due basi in un paio quanto i due filamenti che costituiscono la doppia elica sono detti «complementari». Fu anche spiegato il meccanismo per cui il DNA si raddoppia nelle cellule in preparazione della divisione cellulare: ciascun filamento produce un nuovo filamento complementare a se stesso, con cui rimane associato. Il complesso dei due filamenti è identico alla molecola di origine.

Il ruolo dei geni venne poi completamente chiarificato solo alcuni anni più tardi, dopo lo sviluppo della «ingegneria genetica» che permise di isolare geni in forma pura, di farli operare in batteri o in cellule coltivate in vitro per ottenere i loro prodotti puri e in buona quantità, e di cambiare le basi per ottenere mutazioni.

L'informazione del DNA e la sua utilizzazione.
RNA e proteine

Oggi sappiamo che il DNA contiene informazioni iscritte nell'ordine

delle sue basi (cioè la «sequenza»), esattamente come il significato di un testo scritto è contenuto nell'ordine delle lettere che lo compongono; cambiando una lettera si altera il significato. L'informazione deve essere mantenuta durante le divisioni cellulari, ed è per questo che i due filamenti del DNA si raddoppiano prima della divisione della cellula, in modo che ciascuna delle cellule figlie abbia una copia di ciascun filamento. Il pericolo di errori, cioè il piazzamento di una base sbagliata, durante le duplicazioni del DNA dovrebbe essere grande: invece gli errori sono rari perché ci sono dei meccanismi che li riconoscono e li correggono. Grazie a questi meccanismi, la probabilità di errore è ridotta a una su 100 milioni di basi aggiunte. Ma qualche errore avviene lo stesso, e dà luogo a una mutazione che viene poi trasmessa alla progenie. In aggiunta ci sono altre cause di errore, per esempio l'azione di agenti chimici o radiazioni che modificano una base in modo che venga riconosciuta durante la duplicazione come una base differente; anche questi errori sono rari, perché ci sono dei meccanismi per ripararli. Però anche questi possono fallire, e le conseguenze di un errore non corretto possono essere gravi: una malattia ereditaria o un cancro.

L'informazione contenuta nei geni è stata oggetto di molti studi, grazie ai quali ora si sa che essa ha un significato preciso: portare alla formazione di un prodotto che, per la maggior parte dei geni, è una proteina. Questa molecola è anch'essa un filamento, ma costituita di elementi di natura diversa, gli «amminoacidi». Un gene può determinare la formazione di più di una proteina, come vedremo presto; perciò, essendoci nel genoma umano circa 30.000 geni, essi tutti insieme possono portare alla formazione di oltre 100.000 proteine. Questo può spiegare il notevole numero di differenti attività che il corpo umano può esercitare, sia fisiche sia mentali.

Per formare la proteina l'informazione contenuta nel gene viene utilizzata in due stadi. Nel primo si crea una copia del gene fatta di RNA (o acido ribonucleico), una sostanza molto simile al DNA. DNA e RNA sono abbreviazioni che descrivono due tipi di molecole molto simili sotto certi aspetti, ma molto diversi sotto altri. In entrambe le molecole, NA significa «acido nucleico», una sostanza chimica abbastanza complessa che include un tipo di zucchero. D e R definiscono due differenti stati dello zucchero. R = riboso, D = deossiriboso, che è un riboso modificato. Perciò DNA e RNA sono chimicamente molto simili; però la piccola differenza ha conseguenze notevoli sul comportamento delle due molecole, che sono

entrambe costituite da lunghi filamenti: nel DNA essi sono quasi sempre attorcigliati l'uno attorno all'altro e sono connessi tra di loro in modo regolare formando una doppia elica, mentre nell'RNA i filamenti sono quasi sempre singoli, e prendono forma aggomitolandosi su se stessi, formando connessioni irregolari tra le anse del gomito. Doppie eliche di RNA esistono, ma hanno un uso molto limitato.

Le differenze di forma tra le due molecole determinano le loro proprietà biologiche: il DNA è molto stabile, è molto adatto a conservare l'informazione genetica essenzialmente immutata, mentre l'RNA è molto flessibile, può partecipare a interazioni con altre molecole cambiando forma a seconda delle circostanze. Per queste sue proprietà l'RNA può agire come catalizzatore, aiutando altre molecole a cambiare forma; si comporta perciò come una proteina. Così l'RNA è una molecola con molte funzioni: riceve l'informazione genetica dal DNA, la conserva intatta, la trasferisce ai siti dove si costruiscono le proteine, che poi esprimono la funzione dei geni, indipendentemente dalle proteine.

Il trasferimento di informazione dal DNA all'RNA avviene nel nucleo delle cellule per opera di un sistema di proteine che copia il DNA di un gene in una molecola di RNA; questa viene chiamata il «trascritto» del gene, perché l'RNA usa lo stesso linguaggio di quattro lettere del DNA, con una piccola differenza in una di esse. Il trascritto riproduce uno dei filamenti del DNA, quello che contiene l'informazione, mentre l'altro filamento è lì solo per mantenere la struttura.

Il trascritto viene modificato, anche sostanzialmente, dopo essere stato prodotto. La modificazione più importante deriva da un aspetto speciale della struttura del gene, che è formato da una serie di pezzi «codificanti», cioè capaci di determinare la formazione di una proteina, separati da pezzi che sembrano non avere alcuna funzione; questi ultimi sono chiamati «introni» perché sono dentro i geni. Nel processo noto come *splicing,* tutte le sequenze corrispondenti agli introni vengono eliminate dal trascritto una per una; il risultato è una molecola di RNA, nota come «messaggero», che contiene le sequenze codificanti. Il messaggero è poi responsabile della costruzione della proteina. Nel processo dello *splicing* ci sono spesso delle variazioni; nel saltare un introne, il trascritto può anche saltare un segmento codificante, o anche più di uno, cioè ci può essere uno *«splicing* selettivo». Questo dà luogo alla formazione di più di un messaggero, ciascuno dei quali utilizza alcuni dei pezzi codificanti; il numero di messaggeri corrispondente a un gene può arrivare a una diecina. Nella

specie umana lo *splicing* selettivo avviene in almeno un terzo di tutti i geni.

La funzione del messaggero è di dirigere la formazione della proteina che, negli organismi superiori, non è fatta nel nucleo, ma nel citoplasma. Perciò il messaggero deve esser trasportato dal nucleo al citoplasma attraversando la membrana nucleare. Questo avviene attraverso una specie di porte, chiamate «pori», presenti nella membrana; e per fare ciò il messaggero deve ricevere una serie di modificazioni.

La regolazione dei trascritti

In una cellula non tutti i geni vengono trascritti: c'è un complesso sistema di controllo che determina quali geni vengano trascritti in un certo tipo di cellula e quali no. Lo spettro di geni trascritti varia da cellula a cellula, e le differenze sono responsabili delle varie caratteristiche delle cellule. Il controllo principale è basato sulla presenza, all'estremità di ciascun gene, di una sequenza speciale, la «zona di controllo» del gene. In un certo gene, tale zona è riconosciuta da «proteine regolatrici», che si legano a essa attivando il gene, cioè iniziandone la trascrizione. Per fare ciò le proteine si insinuano tra i due filamenti del DNA, permettendo l'entrata del complesso macchinario che opera la trascrizione. Dopo un certo tempo, in qualche modo le proteine regolatrici scompaiono, e la trascrizione del gene si ferma. Ci sono anche degli RNA regolatori, di cui parleremo più avanti.

L'azione delle proteine regolatrici è fortemente influenzata da segnali che provengono dall'esterno della cellula, e che sono necessari per coordinare l'attività dei diversi geni per gli scopi dell'intero organismo. In questo modo l'attività dei geni attivi in una cellula è interconnessa, vale a dire che esiste una rete di interazioni. Questo permette una buona coordinazione delle funzioni dei vari geni; d'altro canto, se un gene viene alterato o cessa di funzionare, l'effetto si riflette su tutti gli altri. La situazione può essere paragonata a quella di una rete di binari in cui i treni viaggiano in varie direzioni; ci sono binari attivi e binari morti. Quello attivo è controllato da un semaforo che risponde sia alle esigenze di quel percorso, sia allo stato degli altri binari. Se un gene non entra in azione quando dovrebbe, è come se si rompesse uno dei semafori, bloccandosi sulla luce rossa. Allora il treno controllato da quel semaforo si fermerebbe,

e progressivamente ciò sconvolgerebbe il funzionamento dell'intera rete. Le interazioni tra i geni sono la chiave delle grandi varietà di tipi cellulari che esistono nell'organismo, nonché dei continui cambiamenti di tipi cellulari che avvengono durante lo sviluppo dall'uovo fecondato.

Le caratteristiche dei geni di cui abbiamo parlato, cioè le varie parti che li costituiscono, sono le chiavi per l'identificazione di geni in una sequenza del genoma attraverso l'uso di computer con programmi sofisticati. Però le caratteristiche variano parecchio da gene a gene, e ciò rende la scoperta dei geni nella sequenza molto difficile. Tuttavia, già esiste una notevole esperienza sulle variazioni esistenti, tanto che si arriva quasi sempre a un'identificazione esatta del gene. Certo si progredirà ancora parecchio in questo campo, come è accaduto nel passato.

Il significato della trascrizione

Il trasferimento dell'informazione da un gene al suo messaggero ha un significato speciale per capire le nostre origini, specialmente per due fatti: l'uso dell'RNA per trasportare l'informazione alla proteina e lo *splicing* degli introni.

Ci si potrebbe chiedere perché sia necessario l'RNA come intermediario, invece di trasferire l'informazione direttamente dal DNA alla proteina. L'uso dell'intermediario potrebbe essere reso necessario dalla presenza della membrana nucleare, che separa il nucleo dal citoplasma, dove si fanno le proteine; in realtà però ciò non è vero, perché anche i batteri, che non hanno membrana nucleare, usano l'RNA come messaggero. L'interpretazione più verosimile è che l'uso dell'RNA riflette l'evoluzione della vita. Nel suo periodo iniziale non c'era il DNA, e i geni erano fatti di RNA (lo sono ancora oggi in alcuni virus). Il DNA venne più tardi, e si stabilì perché è più adatto a conservare l'informazione genetica. Quando avvenne il trasferimento, il meccanismo per fare le proteine già esisteva, ed era basato sull'uso dell'RNA; evidentemente non fu possibile attuare un trasferimento diretto dal DNA, e l'RNA rimase come intermediario. Si può pensare al cambiamento come a un rimaneggiamento in una ditta: i geni esistenti, fatti di RNA, si dimostrarono inefficienti, e vennero ridotti al ruolo di messaggeri, mentre sopra di essi furono piazzati geni di un altro tipo, quelli fatti di DNA.

Un'altra domanda che ci possiamo porre è perché i geni contengono

introni, che sembrano non avere alcuna funzione: infatti quasi tutti i geni di batteri non hanno introni, e i geni prodotti artificialmente, senza introni, funzionano benissimo. La spiegazione più verosimile è che gli introni sono sequenze estranee che hanno invaso il DNA durante l'evoluzione. Infatti i genomi di tutte le specie contengono sequenze autonome che si moltiplicano indipendentemente dal genoma stesso. Esse sono componenti rivoluzionarie del genoma, completamente egoistiche, di solito mantenute sotto controllo; ma di tanto in tanto una nuova copia di una di esse si forma e si insedia in un'altra parte del genoma; così esse possono aumentare di numero. Gli introni degli organismi superiori non hanno caratteristiche invasive, mentre quelli di organismi primitivi, quali le alghe unicellulari, le hanno. Gli introni degli organismi superiori possono dunque avere la stessa origine, ma aver perduto in seguito la capacità di invadere; questo sarebbe un risultato necessario dell'evoluzione per garantire la stabilità degli organismi. Gli introni negli organismi superiori hanno anche acquistato un nuovo e importante ruolo: quello di controllare lo *splicing* dei trascritti dei geni, moltiplicando così il potere dei geni quali controllori dell'informazione.

Il mondo dell'RNA

La conoscenza degli RNA messaggeri potrebbe far pensare che l'RNA ha una posizione secondaria a quella del DNA. Ma le osservazioni più recenti dimostrano che l'RNA costituisce un mondo a sé, indipendente da quello del DNA, ma connesso a esso. Infatti all'origine della vita l'RNA fu la prima molecola depositaria dell'informazione genetica, che trasmetteva da cellula a cellula, e che nello stesso tempo utilizzava per promuovere le funzioni delle cellule. Questo era possibile per le caratteristiche dell'RNA di cui abbiamo già parlato. Tali proprietà erano essenziali per la vita nel mondo molto primitivo (esistente) di circa quattro miliardi di anni fa. Però, con il progredire dell'evoluzione, la flessibilità dell'RNA si dimostrò pericolosa perché non sempre manteneva inalterata l'informazione genetica. Questo portò, circa 3,5 miliardi di anni fa, alla formazione del DNA che ereditò l'informazione dell'RNA, e da allora la mantenne pressoché inalterata. Allora l'RNA diventò il messaggero, capace di trasferire l'informazione del DNA alle proteine, e anche di usarla direttamente per certe funzioni; e le proteine presero il posto dell'RNA

nell'espletare la maggior parte delle funzioni dei geni.

Il mondo dell'RNA, com'è noto oggi, contiene diversi tipi di molecole. Predominanti sono i messaggeri, di cui abbiamo già parlato; numerosi sono gli «RNA ribosomali» che, assieme a proteine, costituiscono i ribosomi, cioè le particelle su cui si ancorano i messaggeri per dar luogo alla sintesi delle proteine; meno numerosi ma sempre importanti i «ribozimi», catalizzatori fatti di RNA che hanno funzioni simili a quelle degli enzimi proteici; e infine gli *small interfering* RNA che controllano la funzione di altri geni. Importanti sono anche gli RNA che causano l'inattivazione di uno dei cromosomi X nelle femmine; essi sono prodotti dal gene Xist, che è specializzato per questa funzione. Il loro modo d'azione non è chiaro. Un fattore essenziale dell'azione di tutti questi RNA è la loro flessibilità strutturale, che favorisce l'interazione con altre molecole e permette l'azione enzimatica; l'altro fattore è la specificità di interazione con altri acidi nucleici, basata sulla sequenza delle basi. Molte delle funzioni dell'RNA consistono nell'interagire con altri RNA in processi di grande significato biologico, come è dimostrato dai seguenti esempi sul ruolo di vari tipi di RNA.

RNA ribosomali. Quando un ribosoma funziona nella sintesi di una proteina, esso contiene tre tipi di RNA: il messaggero, l'RNA che è parte permanente del ribosoma, e un piccolo RNA che porta con sé l'amminoacido che deve essere aggiunto alla proteina in via di formazione. In aggiunta il ribosoma contiene anche altre proteine. Il trasferimento dell'amminoacido al filamento proteico in via di formazione richiede il distacco dell'amminoacido dal piccolo RNA e la sua connessione alla proteina. Entrambe queste funzioni sono il compito dei vari RNA presenti nel ribosoma. Le proteine del ribosoma non partecipano direttamente in questo processo; esse hanno il compito di raggiungere gli RNA ribosomali, e mantenerli nella posizione adatta. Perciò l'RNA è direttamente responsabile per la formazione della nuova proteina, e lo fa con supporto di proteine formate precedentemente.

Ribozimi. Queste sono molecole di RNA che hanno un'attività catalitica paragonabile a quella di proteine specializzate note come «enzimi». All'origine della vita gli RNA erano solo i catalizzatori, con il compito di attuare la funzione dell'informazione genetica che essi portavano. I ribozimi che esistono oggi sono piccoli (40-160 basi) e usano la loro abilità catalitica per spezzare altri RNA o se stessi in due parti, e poi ricongiungere i pezzi in modo da generare la nuova funzione. Per esempio,

i messaggeri di esseri viventi semplici, come batteri, contengono in qualche gene delle sequenze paragonabili agli introni; i ribozimi hanno il compito di tagliare fuori questo segmento, e poi congiungere le estremità libere del messaggero. Anche negli organismi più avanzati, come l'uomo, l'RNA è essenziale per lo *splicing* degli introni, in cui mantiene il suo compito di riconoscere i punti di taglio e di effettuare i tagli.

Small interfering RNA (siRNAs). Fino a pochi anni fa si pensava che in qualsiasi organismo l'attività dei geni fosse controllata da proteine, che si riteneva fossero le sole a determinare se un gene deve o no produrre il messaggero e la proteina corrispondente al gene. Oggi è chiaro che anche gli RNA da soli possono controllare l'attività dei geni. Il primo indizio di tale regolazione emerse nel 1990, quando un ricercatore cercò di cambiare il colore dei fiori in una petunia, introducendo entro le sue cellule dei geni estranei. Il risultato fu sorprendente: non solo i colori attesi non comparvero, ma i fiori prodotti erano o senza colore o con colore a chiazze. Perciò i geni estranei avevano sconvolto l'espressione normale dei geni della pianta.

Questo fenomeno, chiamato «co-soppressione», è dovuto alla forte espressione dei geni introdotti, con una produzione di abbondante RNA messaggero. Un fenomeno simile può anche essere prodotto se una pianta viene infettata da un virus che abbia un genoma fatto di RNA. Fenomeni simili furono successivamente osservati nelle cellule di molti altri organismi, incluse quelle umane.

In tutti i casi l'effetto è prodotto dalla presenza entro le cellule di piccoli RNA a doppia elica, chiamati «siRNA». La loro formazione dipende di solito dalla presenza entro le cellule di RNA a doppia elica, che derivano o da virus o da RNA con sequenze ripetute. In entrambi i casi questi RNA sono tagliati da un enzima apposito, chiamato *dicer,* che genera frammenti da 21 a 25 basi; questi sono i siRNA. SiRNA sono anche prodotti in alcune cellule da geni appositi. I siRNA si associano a proteine, formando complessi che bloccano l'attività di geni con sequenze simili alle loro, o causando la distruzione del messaggero oppure bloccandone la trascrizione. I siRNA possono avere anche altri effetti sul genoma, alterando lo stato della cromatina perciò influenzando l'attività di molti geni. Questo effetto è simile a quello delle proteine regolatrici dei geni.

I siRNA sono anche strumenti eccellenti per studiare la funzione dei geni in una cellula. Ciò è dovuto al fatto che il gene inattivato da un siRNA ne condivide la sequenza. Perciò, conoscendo le sequenze di quasi

tutti i geni di un organismo, si possono sintetizzare siRNA specifici per ogni gene. Quando uno di essi viene introdotto in una cellula, esso inattiva il gene corrispondente. Già esistono librerie di siRNA corrispondenti a 8-10.000 geni umani, che vengono introdotti uno alla volta in cellule umane in coltura per determinare l'effetto dell'inattivatore di quel gene. Questa è una possibilità che parecchi anni fa nessuno avrebbe neppure sognato.

È anche possibile introdurre un siRNA in cellule di animali o umane, per cui si è sviluppato molto interesse nel loro uso per scopi terapeutici. Molti sforzi vengono fatti oggi per cercare di curare malattie come il cancro, malattie della retina dell'occhio o infezioni come l'AIDS. Questi tentativi sono a uno stadio iniziale. I primi risultati preliminari sono incoraggianti, per cui si va avanti, sebbene ci siano molti problemi da superare.

Che cos'è il genoma

La terminologia

Sembra strano che una parola peculiare come «genoma» sia diventata così popolare come lo è oggi: è usata da tutti, con la massima indifferenza. La desinenza «oma» ricorda termini usati in medicina, per lo più per indicare tumori. Per esempio, linfoma: tumore delle cellule linfatiche; epitelioma: tumore delle cellule epiteliali; glioma: tumore delle cellule della glia e così via. È dunque possibile che genoma voglia dire tumore dei geni? No. È una nuova parola associabile ad altri termini, come trascrittoma e proteoma, che, come vedremo, hanno a che fare con il funzionamento dei geni, e chissà con quanti altri «oma» che verranno fuori nel prossimo futuro.

In questa forma, «oma» significa «insieme di cose simili», e perciò indica l'insieme dei geni nel genoma, l'insieme dei trascritti dei geni nel trascrittoma, e l'insieme delle proteine specificate dai geni nel proteoma. In questi termini l'insieme si riferisce a un solo organismo. Così abbiamo il genoma umano, il genoma di un virus, di un topo, di una pianta e così via. Lo stesso vale per tutti gli altri «oma». Ma l'inventiva neologistica non si ferma qui: abbiamo «genomica», cioè la scienza dei genomi, «trascriptomica», quella dei trascritti, «proteomica», quella delle proteine, che sono usate sempre più frequentemente.

Il termine genoma cominciò a essere usato anni fa, con l'estendersi degli studi sui geni e sui loro effetti a un mucchio di organismi come virus, batteri, animali e piante. All'inizio i geni venivano studiati essenzialmente in un organismo, il moscerino della frutta (cioè la Drosofila), e di conseguenza quando si parlava di un gene si sapeva da dove veniva, anche se l'origine non era menzionata. Ma poi, allargando lo studio a tutti gli altri organismi, si dovette far riferimento all'origine, e si cominciò, diventando gli studi sempre più globali, a usare il termine genoma per indicare brevemente l'organismo di origine del gene. Così ci fu il genoma del lievito, i genomi dei batteri, quello del moscerino, delle piante e molti altri

ancora. E ora abbiamo il genoma umano. Poi l'uso del nome esplose, diventò una delle parole più comuni tra i ricercatori interessati ai geni, e successivamente si diffuse tra il pubblico. Naturalmente i media lo accolsero con gioia, perché conferiva ai loro articoli o comunicati un che di autorevole, solenne, anche se quello che dicevano era insignificante.

Nel pubblico questa parola misteriosa suscitava una miscela di curiosità e timore. Il termine di per sé era molto sospetto, perché veniva associato a cose spiacevoli, come malattie o cibi geneticamente modificati. Ma suscitava anche una specie di ammirazione per le conquiste della scienza, e rendeva la gente timida di fronte alla sua grandezza. Perciò gli scienziati che se ne occupavano venivano ammirati, sebbene con qualche riserva non esplicita, del tipo: cosa ci combineranno adesso?

Per parecchio tempo si parlò di genomi di vari organismi, ma non di genoma umano. Era qualcosa di proibito, una specie di tabù. Forse perché veniva ritenuto così vasto da uscire dal campo della ricerca, qualche cosa di soprannaturale. Non era molto usato quando nel 1986 io scrissi l'articolo sulla necessità di studiarlo e conoscerlo bene per capire noi stessi e le nostre malattie. Forse era questa distanza che fece apparire la mia proposta quasi come una bestemmia, e suscitò irate proteste da parte di tanti scienziati, anche tra i più intelligenti. Ma questo atteggiamento durò poco, e poi tutti cambiarono opinione.

Geni o DNA?

Fino a pochi anni fa, quando si parlava di genoma si pensava a esso in due modi: o come una cordicella di DNA con delle palline, i geni, su cui si focalizzava l'interesse, o come una lunga stringa di DNA in cui c'erano dei segmenti chiamati geni, e in questo caso era il DNA il centro di interesse. La maggior parte dei ricercatori pensava ai geni, perlopiù sconosciuti, e vedeva nella loro identificazione lo scopo esclusivo per analizzare il genoma.

Oggi entrambi i punti di vista appaiono incompleti. Prima di tutto un gene è due cose: è un segmento di DNA, ed è anche un'informazione; e poi non è un'unità, ma un insieme di elementi: ha una parte codificante, responsabile direttamente della sua funzione (cioè specificare una o più proteine), e ha parti che non sono codificanti, per esempio la zona di controllo, ma sono ugualmente importanti.

L'associazione di queste varie componenti rende il genoma misterioso, affascinante. Se pensiamo al genoma di un grande scienziato, per esempio Newton o Einstein, o di un grande artista come Leonardo, o di un grande filosofo come Aristotele, possiamo chiederci: i loro cervelli portarono i loro possessori a fare grandi cose, lo sappiamo tutti, ma come lo fecero? Perché i loro cervelli erano differenti dagli altri da un punto di vista chimico? E il genoma di Marilyn Monroe: come poté conferirle quel fascino che possiamo riconoscere anche oggi nelle fotografie e nei film? Chiunque potrà presto avere un frammento del genoma di uno di questi grandi e portarselo in un anello, nel portafoglio, forse per trarne ispirazione. È un modo per immortalare il corpo, come base per immortalare lo spirito?

Ogni segmento del DNA deve essere studiato tanto come una sostanza chimica quanto come un messaggio, ed entrambe le proprietà vengono rivelate dalla sequenza delle sue basi. Determinare la sequenza delle basi, cioè il loro ordine, è come leggere il messaggio contenuto nel DNA. Quanto più ci addentriamo nel mistero dei nostri geni, che è il mistero di noi stessi, tanto più scopriamo quanto complesse siano le loro interazioni. Siamo stupiti, anche terrorizzati, dalla complessità sia del nostro corpo sia del nostro spirito, e ora comprendiamo che tale complessità trova un parallelo in quella del genoma, e che ha radici profonde. La complessità di quest'ultimo ci spiega anche le nostre origini e i meccanismi che durante l'evoluzione gli hanno dato forma, e questo, a sua volta, ci mostra ciò che era importante per la sopravvivenza degli organismi che ci hanno preceduto, e continua a essere importante per noi oggi. Queste rivelazioni contribuiscono a una conoscenza più approfondita di noi stessi.

Anche prima del Progetto Genoma c'era un interesse considerevole per i geni di molte specie, come anche per il DNA di per sé. In questo modo si era arrivati a capire già molto dei genomi, e queste conoscenze furono essenziali per poi portare avanti il Progetto stesso. Ora vedremo, in sintesi, qual è l'informazione già ottenuta.

I risultati precedenti avevano già dimostrato che il genoma è il cuore di ogni organismo, sia esso semplice o complicato, perché contiene tutta l'informazione per costruire le proteine, cioè le molecole che a loro volta sono responsabili dello sviluppo e del funzionamento dell'organismo. Perciò il genoma si può paragonare a un libro di cucina che contiene tutte le ricette per quel grande banchetto che è la costruzione dell'organismo. Nel caso dell'uomo, è un libro gigantesco, costituito di molti volumi,

ciascuno corrispondente a un cromosoma. È un libro che dà affidamento, perché la presenza di due copie di ogni ricetta (cioè di ogni gene) sui due cromosomi dello stesso paio garantisce che, se si verifica qualche errore mentre la ricetta viene copiata per essere trasmessa alle due cellule figlie, il piatto può ancora essere preparato correttamente usando la copia senza errore. Infatti, quando un gene è alterato, di solito è la copia normale che fornisce l'informazione di cui la cellula ha bisogno. Come vedremo, questa è una caratteristica importante dell'eredità delle malattie.

I cromosomi che contengono il DNA non solo contengono i geni, ma hanno anche altre proprietà interessanti: una è rivelata dai cambiamenti del DNA durante la moltiplicazione della cellula, da fili sottili a un tubo. Questo cambiamento è dovuto all'associazione del DNA con alcune proteine. È una proprietà importante del DNA quella di non essere mai solo nelle cellule; anche quando è in forma di fili, è associato infatti a proteine, con cui forma complessi noti come «cromatina» (il nome deriva dalla facilità con cui assorbe sostanze coloranti). Si riconoscono due forme di cromatina: quella buona («eucromatina») e l'altra («eterocromatina»). La cromatina buona contiene i geni ed è una struttura dinamica che cambia forma in relazione allo stato funzionale del DNA, cioè se i geni che contiene sono attivi oppure no; l'altra cromatina non contiene geni ed è associata ad altre proteine, con cui forma una struttura differente. In certe condizioni l'eterocromatina tende a espandersi, invadendo l'eucromatina e inattivando i geni.

La collaborazione dei geni

In un genoma i vari geni lavorano insieme per produrre il risultato finale. Un esempio di tale collaborazione si può osservare in topi in cui, con i metodi dell'ingegneria genetica o con l'uso di siRNA, si è eliminata la funzione di un gene importante per lo sviluppo di tipi cellulari diversi (per esempio il gene del recettore del fattore di crescita epiteliale). Questi topi vengono chiamati «topi knock out», o più brevemente «k.o.». Per produrre i topi usati nell'esperimento, si usarono animali di tre stipiti derivati da incroci tra fratelli e sorelle; gli animali di ciascuno stipite sono uguali tra di loro, mentre quelli di stipiti diversi differiscono in qualche caratteristica genetica, di solito non identificata. Gli effetti del k.o. furono diversi negli animali dei tre stipiti: i topi di uno stipite morirono presto durante lo

sviluppo intrauterino; quelli del secondo stipite sopravvissero fin verso la metà di quel periodo, poi morirono nell'utero; quelli del terzo sopravvissero fino alla nascita, poi morirono quando avevano circa tre settimane. Evidentemente l'eliminazione di quel gene è dannosa in tutti gli stipiti, ma in modi diversi, che dipendono dallo stato degli altri geni. Non si sa quali siano questi geni, ma lo studio dei topi in cui il gene del recettore è stato eliminato ne permetterà l'identificazione.

L'effetto opposto, cioè la possibilità di eliminare dei geni da un organismo senza conseguenze apprezzabili, è stato dimostrato in modo eclatante da studi con il lievito di birra, in cui di 45 geni studiati, 28 possono essere eliminati (uno alla volta) senza conseguenze riconoscibili; l'eliminazione degli altri 14 geni ha effetti miti, come la riduzione della velocità di crescita; soltanto l'eliminazione dei rimanenti 3 geni è letale. Può essere che il lievito sia un organismo particolarmente adatto a sopravvivere in queste condizioni; ma lo stesso principio sembra valere anche per organismi più complicati, sebbene forse non allo stesso grado.

Una spiegazione possibile di queste osservazioni è che la funzione di certi geni è necessaria solo in circostanze speciali. È come avere a disposizione due strade per raggiungere una città: una attraverso le montagne, l'altra in pianura. Quando nevica, la strada montana è chiusa, ed è necessario usare quella in pianura; ma se c'è un'inondazione, bisogna usare la strada dei monti. Quando nessuna di queste condizioni è in atto, si possono usare entrambe le vie, per cui chiudendone una non si impedisce il traffico. Questo però non è vero per tutti i geni: alcuni sono necessari in ogni condizione, come per esempio alcuni di quelli che, quando sono alterati, danno luogo a malattie ereditarie.

I geni non sono distribuiti uniformemente nel genoma. Nel genoma umano il 60% di geni sono concentrati in piccoli segmenti dei cromosomi caratterizzati dalla presenza di un'elevata proporzione delle due basi C e G, per ragioni ancora sconosciute. Anche in queste aree ricche di geni ci sono delle regolarità interessanti, per esempio la presenza di «famiglie» di geni, costituite da geni che hanno sequenze e funzioni simili. Il loro agglomeramento in piccole aree del genoma è un indizio che essi sono uniti da relazioni speciali. Un esempio è dato dai geni che controllano la formazione di un costituente dell'emoglobina, la globina, presente nei globuli rossi del sangue per trasportare l'ossigeno dai polmoni al resto del corpo. In questa famiglia ci sono cinque geni, che danno luogo a proteine un po' diverse e, cosa più importante, a diversi stadi di sviluppo

dell'individuo. Uno è attivo durante la vita embrionale, due più tardi nel feto, e due dopo la nascita. L'ordine temporale in cui i geni sono attivati è uguale alle loro posizioni nel cromosoma. Tutti e cinque sono orientati nella stessa direzione, il che suggerisce un controllo comune, perché di solito geni contigui ma indipendenti sono orientati a caso. (L'orientamento è dovuto al fatto che c'è un principio e una fine nei messaggi contenuti nei geni; geni con lo stesso orientamento sono localizzati sullo stesso filamento del DNA; quelli con orientamento opposto sono su filamenti opposti.)

Sulla base di queste osservazioni fu possibile dimostrare che tutti e cinque i geni sono sotto un controllo generale che agisce da una distanza considerevole, circa 50.000 basi. In aggiunta, ognuno dei cinque geni, come ogni altro gene, ha il suo controllo privato attraverso la regione di controllo contigua. Sembra che i controlli individuali determinino lo stadio di sviluppo in cui un certo gene deve essere attivato, mentre il controllo generale dirige l'attività di tutti i geni alle cellule che producono i globuli rossi, indipendentemente dal periodo in cui sono attivi.

L'organizzazione di questi geni, nonché i ruoli che hanno in periodi differenti dello sviluppo, suggerisce che la loro organizzazione funzionale sia connessa con la strategia dell'evoluzione, che a ogni stadio aggiunge nuovi geni a quelli preesistenti. Questa strategia spiega l'organizzazione di un gruppo (non una famiglia) di geni, noti sotto il nome HOX, che controllano lo sviluppo della spina dorsale e delle strutture a essa connesse. Si conoscono 350 di tali geni in tutti i vertebrati; nell'uomo ce ne sono 38, distribuiti in 4 gruppi. Questi geni sono organizzati in modo stupefacente. Come i geni della globina, sono tutti orientati nella stessa direzione, e diventano attivi uno dopo l'altro con estrema regolarità. Il coordinamento stupisce, perché l'ordine dei geni nel genoma corrisponde esattamente all'ordine delle regioni su cui essi agiscono nel corpo, e la loro entrata in azione avviene esattamente nello stesso ordine. Se un gene viene alterato, tutti quelli successivi cessano di funzionare: c'è perciò una gerarchia, in cui l'attivazione di un gene richiede l'attivazione di quello che lo precede.

Queste osservazioni sfidano la nostra immaginazione a inventare modelli opportuni per spiegarle. In generale esse mostrano che, durante l'evoluzione, quando veniva aggiunto un segmento alla lunghezza di un organismo, veniva aggiunto anche un gene al genoma in posizione adatta per poterlo controllare. L'ordine in cui questi geni diventano attivi fa

pensare che la loro attività sia determinata da segnali che si propagano da un gene all'altro, forse attraverso modificazioni progressive della cromatina. Non ci sono altri esempi di un'organizzazione simile nei genomi.

L'inattivazione dei geni

Un modo sorprendente per orchestrare i geni è quello di renderli inattivi, cioè incapaci di dar luogo alle loro proteine, non individualmente, ma in grandi parti del genoma. Un esempio notevole è quello del cromosoma X, che nell'uomo e in altri animali è parte del sistema che determina il sesso dell'individuo. Questo è dovuto alla presenza di due cromosomi X nelle femmine, e uno solo nei maschi, in cui uno di essi è sostituito del cromosoma Y. Il fatto di avere due cromosomi X in individui di un sesso e solo uno in quelli dell'altro dovrebbe provocare dei problemi perché le femmine avrebbero una maggior espressione dei geni presenti sul cromosoma X, che hanno le stesse, numerose funzioni in entrambi i sessi.

L'evoluzione ha posto riparo a questa situazione rendendo i due cromosomi X presenti nelle femmine diversi l'uno dall'altro: uno funziona normalmente, mentre l'altro è quasi completamente inattivo. In questo modo maschi e femmine sono equivalenti per la maggioranza dei geni su quel cromosoma, perché producono le loro proteine in quantità uguali; ma non interamente, però, perché alcuni geni sfuggono all'inattivazione, e sono quelli direttamente responsabili delle differenze connesse con il sesso. La differenza tra i due cromosomi X nelle femmine è stata riconosciuta già da molto tempo per una peculiarità notata attraverso l'osservazione microscopica dei nuclei. Nelle femmine vi si vede un granulo che è assente nei maschi: esso è il cromosoma X inattivo, tutto aggrovigliato su se stesso, in forma di eterocromatina.

Questo fenomeno, che va sotto il nome di «inattivazione del cromosoma X», è stato studiato approfonditamente. Prima di tutto ci chiedemmo: quale dei due cromosomi è inattivato? La risposta è stata data studiando femmine che portavano geni distinguibilmente diversi sui due cromosomi. Il risultato fu che in una metà delle cellule è attivo un cromosoma, nell'altra metà l'altro cromosoma. Perciò, a livello dell'intero organismo, i due cromosomi X sono equivalenti, ma, nell'insieme, è come se l'organismo ne avesse solo una copia. La presenza di un solo cromosoma X nei maschi è

comunque sufficiente per mantenere un adeguato livello delle funzioni dei suoi geni.

Però, come si è detto, non tutti i geni sono inattivi nel cromosoma inattivato: esso contiene delle piccole zone attive frammiste a quelle inattive. Perciò l'inattivazione colpisce solo certe regioni del cromosoma. Ciò pare derivare dalla presenza di centri di inattivazione, ciascuno responsabile per l'inattivazione dei geni in una regione; e ogni centro contiene un gene speciale che causa l'inattivazione. Il meccanismo d'azione di questo gene sembra essere diverso da quello della maggioranza degli altri geni, perché non usa una proteina, ma un RNA.

L'inattivazione del cromosoma X rappresenta perciò un nuovo metodo di controllo dei geni, diverso da quelli descritti prima. Un ulteriore metodo di controllo è responsabile per un fenomeno noto come *imprinting* e consistente nel fatto che certi segmenti di cromosomi sono attivi in un individuo solo se derivano da uno dei genitori, ma non se derivano dall'altro. Alcuni di questi geni sono attivi se sono contenuti nel cromosoma di origine materna, altri in quello di origine paterna. Anche in questo caso l'attività del segmento è controllata da un centro di *imprinting,* in cui le basi C sono modificate fisicamente con l'aggiunta di un gruppo chimico (fenomeno noto come «metilazione»). La mediazione della base C ha grande importanza in ogni parte del genoma perché causa l'inattivazione dei geni e probabilmente partecipa anche all'inattivazione del cromosoma X.

Non è chiaro perché il fenomeno dell'*imprinting* esista. Una possibilità è che si sia sviluppato durante l'evoluzione per mantenere in equilibrio la bilancia dell'attività dei geni, in modo simile all'inattivazione del cromosoma X. Infatti lo sbilanciamento di geni può creare gravi problemi, come si osserva negli individui in cui un cromosoma è presente in tre copie anziché due, con la conseguenza che essi possono risultare gravemente handicappati. Durante l'evoluzione qualche gene forse raggiunse un'attività eccessiva, dannosa per l'organismo. Dovendola ridurre, eliminare l'attività di uno dei cromosomi raggiunse questo scopo. Si sarebbe potuto ottenere lo stesso risultato con l'inattivazione permanente del gene su uno dei due cromosomi in tutti gli individui; ma nelle generazioni successive inevitabilmente alcuni individui sarebbero finiti con due copie attive del gene e altri con due copie inattive. Invece l'*imprinting* mantiene l'attività di una singola copia in ogni generazione, perché l'inattivazione non è permanente ma avviene solo una generazione per volta.

L'inattivazione dei geni con la metilazione della base C del DNA è basata su un meccanismo nuovo, diverso dai meccanismi genetici che dipendono dalla sostituzione di una base con un'altra, come avviene nelle mutazioni. Il nuovo meccanismo viene definito «epigenetico», cioè in aggiunta ai meccanismi genetici.

Ci sono altri meccanismi epigenetici che controllano l'attività dei geni. Il più importante è quello basato su modificazioni chimiche di proteine che circondano il DNA, chiamate «istoni». Queste modificazioni avvengono in segmenti di DNA piuttosto lunghi, come per esempio, nelle femmine, i segmenti del cromosoma X in cui i geni vengono resi inattivi. Le modificazioni degli istoni sono spesso associate alla metilazione del DNA perché le proteine che causano i due cambiamenti fanno spesso parte dello stesso complesso, e sono regolate assieme. Anche i siRNA, di cui abbiamo già parlato, partecipano in questi meccanismi di silenziamento di geni.

Fenomeni epigenetici anormali possono essere causa di malattie; tra questi sono cambiamenti dell'*imprinting* e silenziamento di geni che dovrebbero essere attivi. Quest'ultimo meccanismo si osserva frequentemente nei cancri.

Le sequenze ripetute

Un aspetto di grande significato del genoma dei mammiferi, incluso l'uomo, è che i geni rappresentano solo una piccola porzione di tutte le sequenze: circa il 3% nell'uomo. Ci si può chiedere cosa ci sia nel resto delle sequenze. Le nostre conoscenze su questo punto sono parziali e in parte speculative. La maggior parte delle sequenze al di fuori dei geni è fatta di segmenti ripetuti molte volte. Queste «sequenze ripetute» sono piuttosto corte (da poche centinaia a qualche migliaio di basi), e possono presentarsi un gran numero di volte. Un esempio sono le sequenze note come «ALU» (un nome di laboratorio) che hanno ciascuna 260 basi e sono ripetute più di mezzo milione di volte nell'uomo. Certe sequenze ripetute, note come «microsatelliti», contengono poche basi, due o tre (per esempio CACACA...); esse hanno acquistato un importante significato come punti di riferimento nel genoma, data la loro utilità per rintracciare geni; esse sono usate per identificare individui attraverso il loro DNA.

La scoperta di tutte queste sequenze rese perplessi i ricercatori, che cercavano di scoprirne il significato. È chiaro però che nella maggior parte dei casi tali sequenze non hanno una funzione necessaria, perché i genomi

di certe specie ne hanno pochissime, e ciononostante funzionano normalmente. Perciò si pensò che non avessero alcun ruolo, e si definirono *junk,* ossia «immondizia». Poi pian piano alcune funzioni cominciarono a emergere: per esempio, il DNA fuori dei geni contiene sequenze che regolano lunghi tratti di cromosomi, come nell'inattivazione del cromosoma X e nell'*imprinting.* Fuori dei geni ci sono anche le aree dove inizia la duplicazione del DNA prima che la cellula si divida: nel genoma umano ci sono circa 50.000 di queste aree; e poi ci sono i siti dove avviene la ricombinazione, che non sono ancora identificati, ma che potrebbero coinvolgere anch'essi sequenze ripetute.

Un'altra funzione importante di sequenze ripetute è il mantenimento dell'integrità fisica dei cromosomi. Quando, durante la divisione cellulare, i cromosomi vengono distribuiti tra le cellule figlie, essi sono meccanicamente tirati verso l'una o l'altra di esse. Si potrebbe pensare che il DNA, essendo un filamento così sottile, corre il rischio di rompersi sotto questo sforzo. Ma ciò non avviene perché la trazione è applicata a una struttura di DNA rinforzato da proteine che lo circondano, formando attorno a esso un tubo; la creazione del tubo è determinata dalle sequenze ripetute presenti sul DNA in quel punto. In questo modo il DNA è protetto dalle sequenze ripetute, e sopravvive allo sforzo a cui è sottoposto.

Altre sequenze ripetute sono presenti alle estremità dei cromosomi, formando ciò che si chiama il «telomero». Esse sono essenziali per permettere la duplicazione del DNA. Infatti, durante la duplicazione, la formazione di una nuova copia parte da un sito di inizio e da lì si dirige in entrambe le direzioni. Quando la costruzione della nuova copia raggiunge l'estremità di un cromosoma, nell'ultimo breve tratto uno dei filamenti non viene copiato, e il nuovo DNA rimarrebbe incompleto. Per evitare questa possibilità, il DNA alla fine del cromosoma è formato da una lunga catena di sequenze ripetute, costituite da sei basi. Quando l'onda di duplicazione raggiunge la fine, alcune di queste sequenze non vengono duplicate, ma ciò non ha importanza perché esse non partecipano alla funzione dei geni. Si potrebbe pensare che con il tempo, dopo ripetute duplicazioni, le sequenze vengano esaurite, rinnovando così il pericolo per i geni. Ma anche questo pericolo è eliminato dal fatto che, in cellule che vanno incontro a molte duplicazioni, le sequenze di cui parliamo vengono regolarmente aggiunte all'estremità dei cromosomi dall'attività di un enzima, chiamato «telomerasi», che le copia da un modello contenuto entro l'enzima stesso. Cellule che si moltiplicano indefinitamente, come le

cellule germinali, hanno una telomerasi attiva, in modo che quando si forma un nuovo organismo, esso comincia con dei telomeri completi; durante la vita dell'organismo la telomerasi scompare, cosicché i telomeri si accorciano progressivamente; ma ce n'è abbastanza per mantenere intatti i cromosomi durante la vita. Un nuovo problema insorge quando si forma un cancro, le cui cellule si dividono molto di più che non quelle normali: anziché bloccarsi, come si potrebbe pensare, la crescita del cancro continua perché entro le sue cellule si riattiva la telomerasi. Questo enzima perciò potrebbe essere la chiave per combattere i tumori, se si riuscirà a bloccarne l'azione.

Un'antica invasione

Il fatto che ci siano sequenze ripetute, cioè che entro una famiglia di tali sequenze i vari membri siano tutti identici, fa pensare che essi derivino dalla moltiplicazione di una sequenza che molto tempo fa invase il genoma. Infatti è provato che tali sequenze possono moltiplicarsi entro la cellula, e che i prodotti possono saltare da un punto all'altro del genoma, come fu osservato da Barbara McClintock studiando il granturco. Normalmente questo forma grani rossi per la presenza di uno speciale pigmento, ma di tanto in tanto se ne osservano di gialli o marmorizzati. I grani gialli si formano quando una sequenza di questo tipo salta nel gene, inattivandolo, cosicché il pigmento rosso non si forma più; i grani marmorizzati si formano invece quando successivamente la sequenza lascia il gene, facendo riprendere la produzione del pigmento.

Fenomeni simili avvengono anche nel genoma umano, sebbene raramente: si conosce un caso di emofilia (malattia in cui la coagulazione del sangue è difettosa, cosicché sono facili le emorragie) in cui il gene per un fattore necessario alla coagulazione fu inattivato da una sequenza che saltò in essa. La sequenza appartiene a una famiglia che conta ben 100.000 membri nel genoma umano. Evidentemente non saltano molto frequentemente, altrimenti sarebbero guai.

Alcune delle sequenze ripetute sono autonome, cioè sono piccoli genomi inseriti nel genoma dell'organismo, capaci di causare la formazione delle proteine necessarie per la loro moltiplicazione e distribuzione. Esse sono simili ai genomi di certi virus noti come «retrovirus», che sono molto diffusi in tutte le specie animali, incluso l'uomo. Alcuni di essi provocano

malattie, per esempio il cancro, negli animali e nell'uomo; molti sono invece innocui. Il loro nome deriva dal fatto che essi si riproducono nella direzione opposta a quella che anni fa sembrava l'unica nel mondo biologico, cioè dal DNA del gene all'RNA del messaggero. Infatti questi virus, quando sono fuori delle cellule, hanno un genoma fatto di RNA, e dentro le cellule ne producono copie fatte di DNA: perciò violano il dogma sul decorso dell'informazione genetica, da cui il nome «retrovirus», che implica l'andare a ritroso nell'evoluzione. Ma questo nome non è corretto, perché durante l'evoluzione si formò prima l'RNA, che più tardi trasferì la sua informazione al DNA. Molti virus si aggiornarono, e adottarono geni di DNA; ma un gruppo di essi mantenne i geni originali, dell'RNA, ignorando l'invito proveniente dal resto degli esseri biologici: dei veri conservatori!

È perciò probabile che le sequenze ripetute capaci di saltare da un punto all'altro del genoma animale siano residui delle prime fasi della vita, come anche gli introni presenti nei geni e le sequenze dei telomeri, anch'essi costruiti copiando un modello fatto di RNA incorporato nell'enzima. Sembra che ogni tanto le sequenze ripetute diano in prestito i loro enzimi anche a geni del genoma in cui sono ospiti, causandovi l'inserzione di copie di geni prive di introni (perché originanti da RNA messaggeri che non ne possiedono). Alcune di queste copie rimangono perfettamente funzionali; altre, invece, vengono alterate, forse durante la loro formazione, e sono inattive, quindi vengono definite «pseudogeni». Tutto ciò prova che l'evoluzione è ancora attiva; le sequenze così disseminate (incluse quelle degli pseudogeni) possono essere infatti utilizzate per la formazione di nuovi geni.

Un genoma separato

Fin qui abbiamo parlato dei geni presenti nel genoma principale della cellula, quello che risiede nel suo nucleo; ma in tutte le cellule c'è un altro genoma, molto più piccolo, al di fuori del nucleo: è quello dei «mitocondri», piccoli corpuscoli che sono presenti nel citoplasma delle cellule. I mitocondri sono essenziali per provvedere energia alle cellule; per questa ragione le loro alterazioni possono avere delle conseguenze molto gravi. La cosa sorprendente è che i mitocondri sono batteri modificati, che entrarono nelle cellule in uno stadio precoce

dell'evoluzione; sono dei veri parassiti, il cui DNA, piccolo e di forma circolare, si moltiplica al ritmo del DNA nucleare, per cui il numero di mitocondri in una cellula è pressoché costante (circa un migliaio). Essi hanno pochi geni (35 nell'uomo) e, per funzionare, adoperano anche proteine prodotte da geni nucleari.

Una proprietà importante dei mitocondri delle cellule umane è che essi vengono ereditati solo dalla madre. L'ovocita, prodotto dalla femmina, ha un grande citoplasma, completo di mitocondri, mentre lo spermatozoo, prodotto dal padre, ha un citoplasma minimo che non ne contiene. Questa eredità uniparentale rende il mitocondrio molto utile per rintracciare le origini di popolazioni sulla base di somiglianze dei loro DNA: con i mitocondri si segue solo una linea, anziché due che si intrecciano, come succederebbe se si usassero i geni del genoma nucleare.

Un esempio spettacolare di tale uso del DNA mitocondriale è il ruolo che ha avuto nel risolvere un mistero che ha attanagliato gli storici per molti anni: il destino dei corpi dei Romanov, gli ultimi imperatori di Russia, dopo che vennero massacrati. C'erano molte idee: che i cadaveri fossero stati disciolti in acido solforico, oppure bruciati, o forse sepolti in una tomba senza nome. Seguendo alcuni indizi, fu possibile scoprire una tomba che conteneva parecchi corpi, e si pensò che fossero i loro; però il numero dei corpi non era quello che ci si aspettava. Per cercare di chiarire la situazione, le spoglie vennero esumate e il DNA dei mitocondri estratto dalle ossa. Si dimostrò così che i cadaveri erano imparentati tra di loro. Per vedere se appartenevano ai Romanov, si cercarono dei parenti - tra cui il duca di Edimburgo - che donarono campioni delle loro cellule. Gli esami dei relativi mitocondri confermarono l'appartenenza dei cadaveri ai Romanov, ma c'era qualche cosa di strano: il DNA mitocondriale non era puro, contenendo una miscela di due tipi che differivano tra di loro solo per una base. Poteva essere una contaminazione, ma poteva anche essere che nelle cellule ci fossero due cloni di DNA mitocondriale, una cosa piuttosto rara. Si cercarono altri parenti, e si trovò il cadavere di un fratello dello zar, che era morto di tubercolosi alla fine dell'Ottocento. Attraverso alcune analisi, si trovò che anche il suo DNA mitocondriale conteneva le due forme. Così il mistero fu risolto definitivamente, gli storici furono felici, e i Romanov ora possono giacere in pace.

Le cellule delle piante contengono anche un'altra particella, il «cloroplasto», che è responsabile della trasformazione dell'energia luminosa in energia chimica. Anch'esso deriva da batteri (ma ha una

struttura diversa) e contiene un DNA circolare, come quello dei mitocondri, ma più grande, e con molti geni necessari per la trasformazione di energia.

Lo svolgimento del Progetto Genoma

Il principio

Per molto tempo i genetisti hanno studiato lo sfondo su cui i geni esistono e agiscono: il DNA. Dapprincipio ci fu uno sforzo per arrivare alla conoscenza dei geni, che erano noti solo per la loro funzione, come i colori degli occhi nella Drosofila, o l'abilità di produrre malattie in animali da esperimento per i batteri o i virus. Poi, con il riconoscimento che molte malattie ereditarie sono dovute a un'alterata funzione di geni, lo sforzo di identificarli fu diretto a un aspetto pratico: la diagnosi e prevenzione di tali malattie. Un altro impulso alla mappatura dei geni venne dopo che, grazie alla loro conoscenza, si poterono produrre farmaci, in particolare alcuni ormoni, perché si pensava che ciò avrebbe portato alla scoperta di molti altri farmaci.

In tutti questi sforzi, che diedero risultati di grande importanza, l'obbiettivo era sempre un particolare gene; questo era necessario a causa delle notevoli limitazioni tecnologiche a disposizione. Ma, riconoscendo le limitazioni, si lavorò per superarle, e si raggiunsero importanti sviluppi tecnologici che furono poi essenziali per il successivo sforzo diretto a tutto il genoma. Tra questi sviluppi tecnologici bisogna ricordare: la messa a punto del metodo per determinare la sequenza del DNA, cioè l'ordine delle sue basi; la scoperta di proteine-forbici che tagliano il DNA in punti precisi, in modo da ottenerne dei frammenti di varie lunghezze; lo sviluppo dell'ingegneria genetica che permette di isolare frammenti di DNA, di ottenerne molte copie (cioè «cloni»), e di studiarne le caratteristiche sia fisiche sia biologiche.

Però l'idea di studiare tutti i geni di un organismo, cioè l'intero genoma, nacque più tardi, nel 1985. Due avvenimenti indipendenti, sintomatici degli sviluppi futuri, avvennero quasi contemporaneamente in quell'anno. Il genetista Robert Sinsheimer organizzò un meeting in California per discutere con altri genetisti la possibilità di ottenere la sequenza di qualche genoma; il meeting si chiuse all'insegna dello scetticismo, visto che gli

invitati non sembravano essere troppo ottimisti su quelle possibilità. Tuttavia si trattava di un atto pionieristico. Quasi contemporaneamente io presentavo la stessa idea in una conferenza per l'inaugurazione di un nuovo laboratorio al Cold Spring Harbor Laboratory, un grande centro di ricerche biologiche vicino a New York. Ricordo il silenzio con cui la mia proposta fu accolta; dopo la conferenza se ne parlò molto, ma le discussioni non erano molto incoraggianti.

Dopo il ritorno al mio laboratorio, al Salk Institute, ripensai molto all'idea e al fatto che non fosse stata ben accetta. Avevo una buona ragione per promuoverla. Io facevo ricerche sul cancro, e i risultati raggiunti da tutti i laboratori attivi in quel campo puntavano ai geni come causa della malattia. Già si conoscevano parecchi geni che potevano generare la malattia, ma i risultati indicavano anche che molti altri dovevano essere coinvolti nel suo sviluppo e nella sua progressione verso lo stato di malignità, cosa di fondamentale importanza medica. Era chiaro che bisognava conoscere tutti i geni umani per poter determinare quali funzionano troppo e quali troppo poco nelle cellule tumorali, e così determinare le conseguenze che tutti conosciamo. Per poter individuare le variazioni dei geni, bisognava in primo luogo conoscerli. Parlai parecchio di questa idea con i colleghi, e riuscii a convincerli che era valida, anche perché i risultati sarebbero stati di estrema utilità in molti altri campi della biologia e della medicina, nonché per l'industria biotecnologica, che era ancora nella sua infanzia. Essi mi incoraggiarono a non abbandonare l'idea, malgrado la fredda accoglienza che aveva ricevuto. Così decisi di pubblicare un articolo su *Science,* una rivista scientifica molto letta. Ci volle un po' di tempo per fare ciò: prima per scriverlo, poi per farlo accettare; infine uscì in forma piuttosto abbreviata, ma adeguata, nel marzo 1986.

La reazione fu fenomenale. Ci fu un interesse generale, anche se in principio spesso negativo. Ricordo uno strano commento che fu fatto da uno specialista di genetica in un meeting in cui io esponevo le ragioni della mia idea. Quando ebbi finito lui si alzò e disse: «Non vedo la ragione di andare a studiare tutti i geni: sarebbe come andare a studiare tutte le foglie di un albero, una per una». Uno straordinario commento da parte di uno specialista: non sapeva che i geni sono tutti diversi, mentre le foglie di un albero sono tutte uguali? Però abbastanza rapidamente le cose cambiarono, e dopo pochi mesi tutti erano favorevoli all'idea. Un supporto importante venne da una direzione impensata: il Dipartimento dell'Energia degli Stati

Uniti. Certo, era strano pensare che laboratori inizialmente dedicati allo sviluppo dell'energia atomica si sarebbero interessati alla determinazione dei geni dell'uomo. Ma ciò avveniva perché il Dipartimento si interessava da anni ai possibili danni causati dalle radiazioni nucleari, e aveva perciò intrapreso seri studi di genetica. Esattamente perché fossero interessati alla conoscenza di tutti i geni non lo so. Comunque la partecipazione del Dipartimento era molto importante, perché disponeva di buoni laboratori, ricercatori esperti e molti soldi.

Lo sviluppo del Progetto

Così in qualche anno si cominciò a lavorare. Il primo progetto ufficialmente destinato al genoma umano cominciò proprio al Dipartimento dell'Energia, nel 1987; anche molti ricercatori cominciarono a dirigere le loro ricerche in quella direzione, ma indipendentemente. Gli sforzi iniziali furono diretti a migliorare le tecnologie già esistenti per la ricerca dei geni. Una delle armi più importanti per studiare il genoma era la formazione di quelle che vengono chiamate «mappe» del genoma, cioè una serie di punti ben definiti (i «marcatori») che aiutano la ricerca dei geni.

A quel tempo si puntava perlopiù ai geni responsabili di malattie ereditarie. Una tecnica molto usata si basava sullo studio di famiglie in cui alcuni membri soffrivano di una malattia, e altri no. In quei casi si otteneva il DNA da tutti i membri della famiglia, e i vari DNA venivano esaminati per vedere se i membri ammalati si comportavano in modo diverso dai membri sani in relazione ad alcuni dei marcatori noti. Se c'era una differenza, si andava a studiare il DNA attorno ai marcatori individuati nei membri ammalati, nella speranza di identificarvi il gene. Le mappe erano quindi essenziali per delimitare la ricerca a una zona del genoma circoscritta, sebbene spesso molto grande. i

In questo lavoro il DNA ottenuto dai vari membri della famiglia doveva essere frammentato e poi introdotto in cellule (di solito batteri) in cui potesse moltiplicarsi, per poi ottenere preparazioni pure e abbondanti, cioè «cloni» di tutte le sue parti. Per ottenere ciò i frammenti del DNA venivano introdotti in «vettori» capaci di penetrare nelle cellule. Inizialmente, con i vettori allora a disposizione si potevano usare solo piccoli frammenti di DNA, al massimo di poche diecine di migliaia di basi.

L'obbiettivo di studiare tutto il genoma diede poi impulso allo sviluppo di mezzi adeguati per produrre pezzi molti più lunghi di DNA: in qualche anno furono quindi sviluppati vettori capaci di trasportare pezzi fino a un milione di basi, un risultato che sembrava incredibile.

Si lavorò molto a perfezionare la metodologia per produrre le mappe, sviluppando nuovi marcatori che avessero caratteristiche diverse nel DNA di individui diversi. Uno dei marcatori è rappresentato da piccole sequenze ripetute (solitamente di sole due basi, per esempio ATATAT) dette «microsatelliti», che possono avere un numero diverso di ripetizioni in individui diversi, ma rimangono costanti in un individuo singolo; esse venivano localizzate nel DNA usando le sequenze circostanti, che sono costanti. Usando questo metodo, e altri ancora, si formarono delle mappe con 5-6000 marcatori, che facilitarono enormemente la scoperta dei geni responsabili di malattie.

Entro pochi anni molti paesi svilupparono progetti più specifici per lo studio del genoma, con forti finanziamenti. L'interesse cominciò così a espandersi, includendo genomi di molte altre specie. Ciò era in parte determinato dall'obbiettivo specifico dei ricercatori, ma anche da una visione più vasta dei genomi. C'erano già sufficienti prove che molti geni sono comuni a vari organismi, anche molto diversi, come l'uomo e il lievito; perciò la ricerca prese un aspetto globale, in cui non era importante sapere quale genoma si studiava. Era chiaro che la conoscenza di un genoma facilmente decifrabile, perché piccolo e presente in cellule agilmente manipolabili, come quello del lievito, sarebbe stato molto utile per lo studio di genomi più grandi e complessi, appunto per questa comunanza dei geni. Perciò, mentre inizialmente si parlava di «Genoma Umano», alla fine si impose il termine di «Progetto Genoma». Contemporaneamente si fecero molti progressi nell'uso dell'informatica per analizzare i dati ottenuti e per identificare i geni nelle sequenze man mano che venivano prodotte.

Per parecchi anni i progressi furono localizzati, o concettualmente o spazialmente, perché i vari laboratori studiavano singoli geni, o segmenti di cromosomi, avendo mezzi di studio limitati. Però progressivamente si svilupparono mezzi più potenti. Molte delle tecnologie vennero automatizzate, il che permise di costruire laboratori ben attrezzati per approfondire gli studi.

Per diverso tempo il lavoro fu condotto in laboratori sovvenzionati principalmente da agenzie governative, sebbene ci fosse anche un

contributo importante da parte di istituzioni private, come le varie ramificazioni del Telethon, che esistevano in numerosi paesi. Poi i due più potenti laboratori pubblici, quello del Dipartimento dell'Energia e quello degli NIH (National Institutes of Health) degli Stati Uniti decisero di unire i loro sforzi. Un fattore decisivo fu però l'entrata in campo di ditte private, specialmente della Celera, che riuscì ad attrarre molto capitale privato e costruì dei laboratori che erano vere fabbriche, con attrezzature fantastiche e personale della più alta qualità. Rapidamente fu chiaro che questa ditta poteva ottenere grandi risultati e in modo molto più rapido che non i laboratori indipendenti. Questo stimolò la formazione di un consorzio internazionale di questi laboratori per poter competere con la Celera, consorzio che ottenne forti finanziamenti da fondazioni private. La concorrenza tra questi due gruppi poderosi fu un elemento fondamentale per ottenere risultati veramente straordinari, a cui ciascun gruppo contribuì indipendentemente. Avendo le tecnologie necessarie per studiare il genoma, come detto sopra, lo sforzo principale fu mirato a ottenere la sequenza completa di vari genomi, ma principalmente di quello umano; ufficialmente questo progetto, chiamato «Progetto Genoma» Umano, iniziò nel 1990. Negli anni successivi diversi genomi, di lunghezze crescenti, vennero sequenziati. Il primo successo fu il sequenziamento del genoma di un batterio, di 1,8 milioni di basi, seguita da quella del lievito, di un altro batterio di 5 milioni di basi, di un vermetto (C. *elegans)* molto studiato dai biologi, di due cromosomi umani, del genoma del moscerino Drosofila e finalmente del genoma umano.

Determinare la sequenza

Il sequenziamento è il processo usato per determinare l'ordine delle basi, cioè per leggere il messaggio contenuto nel DNA; perciò la tecnologia del sequenziamento diventò centrale nello sviluppo del Progetto Genoma. Tale tecnologia è basata sulla possibilità di fare copie di un segmento di DNA usando reagenti, noti come «nucleotidi», derivati ciascuno da uno dei quattro costituenti del DNA, le sue basi, assieme a un enzima che li unisce. La copia di un filamento comincia a una estremità, ponendo una base complementare accanto a quella esistente nel filamento, e poi attaccandovi una serie di basi complementari a quelle del filamento - una dopo l'altra - cosicché la copia progressivamente si allunga.

Per determinare la sequenza si costruirono dei reagenti modificati in modo tale che, se uno di essi viene inserito al posto del reagente normale, impedisce l'ulteriore allungamento della copia. Questi li chiameremo «reagenti interrompenti». Se ne produssero allora quattro, corrispondenti ai quattro reagenti normali. Per ottenere la sequenza il DNA viene copiato usando una miscela contenente i quattro reagenti normali più uno interrompente, ma in quantità più bassa di quella normale. Di conseguenza, tutte le volte che viene il turno per l'inserzione di quel reagente, viene inserito o quello normale, o quello interrompente, a caso, mentre gli altri si inseriscono normalmente. Siccome il reagente normale è in eccesso su quello interrompente, questo non sostituisce sempre quello normale, ma solo qualche volta. Facendo un gran numero di copie dello stesso filamento in tali condizioni, il reagente interrompente viene inserito a caso nella posizione di quello normale in punti diversi nelle varie copie. Siccome dopo l'inserzione la copia non si allunga più, la sua lunghezza indica un punto del DNA dove c'è quella base. Poi le copie vengono separate e riordinate a seconda della loro lunghezza crescente. Essendo tutte interrotte a una delle posizioni dove c'è quella base, in condizioni ottimali, tutte le posizioni di quella base verranno così identificate.

Per determinare la sequenza completa di un segmento di DNA, esso viene quindi copiato quattro volte, usando ogni volta un reagente interrompente diverso. Si ottengono così quattro gruppi di copie di lunghezza crescente, ciascuna terminata a una delle posizioni del reagente interrompente usato. Mettendole tutte insieme, e ordinandole per lunghezza, ne risulta una scala i cui gradini corrispondono a tutte le basi del filamento; la base corrispondente a un gradino è determinata dal reagente interrompente usato nel fare la copia che termina a quel gradino.

Questa tecnica fu dapprima usata per sequenziare il DNA di virus e batteri e poi quello dell'uomo. Essa fu perfezionata in vari modi e poi fu automatizzata, permettendo di sequenziare filamenti di DNA di un migliaio di basi. Però tutti i DNA di cui si cercano le sequenze sono molto più lunghi, quindi bisogna prima frammentarli, producendo filamenti della lunghezza desiderata. Per capire come ciò viene fatto, pensiamo a un nastro molto lungo su cui sono scritti dei messaggi in un linguaggio noto, intervallati da tratti incomprensibili. Vogliamo leggere i messaggi e abbiamo una macchina che può farlo a patto che i nastri siano molto piccoli. Allora prendiamo parecchi nastri uguali, li tagliamo in pezzi corti a caso e li mettiamo nella macchina; in ciascuno di essi leggiamo solo un

segmento (per esempio cinquanta lettere) a ciascuna estremità. I dati vengono immessi in un computer che riconosce segmenti identici; essi identificano i pezzi che si sovrappongono. Usando le sovrapposizioni si ricostruisce tutto il nastro. I pezzi rilevanti vengono poi immessi nella macchina, dove vengono letti interamente; dopo l'eliminazione delle sovrapposizioni, si ha tutto il messaggio, con le parti leggibili e quelle incomprensibili. Poi un computer lo esamina e identifica i messaggi leggibili.

Nel DNA la frammentazione può essere prodotta in due modi. Il metodo classico è basato sull'uso di speciali forbici, cioè proteine capaci di tagliare la doppia elica del DNA in punti ben precisi, caratterizzati da un gruppetto di basi in un determinato ordine; chiameremo questi gli obbiettivi delle proteine-forbici. La proteina-forbice viene aggiunta al DNA da sequenziare, che contiene un gran numero di molecole uguali. Tale proteina è usata in quantità insufficiente per tagliare i vari DNA in corrispondenza di tutti gli obbiettivi, agendo a caso solo su una parte di essi. Si ottengono così vari frammenti che contengono obbiettivi non tagliati, per cui ce ne sono alcuni alle cui estremità si trovano segmenti identici. Si usano questi segmenti sovrapposti per allineare i frammenti. Poi i singoli frammenti vengono amplificati producendo cloni che vengono sequenziati. Così si ottiene la sequenza di tutto il DNA.

Quando si hanno DNA molto lunghi, come, per esempio, quello di un cromosoma umano, si segue questo principio, ma aggiungendovi un altro stadio: una prima frammentazione viene fatta con una proteina-forbice che produce dei frammenti di 100.000-200.000 basi; essi vengono allineati e clonati come è descritto sopra; poi ciascuno dei cloni è ulteriormente frammentato, generando pezzi piccoli che vengono sequenziati. In questo modo l'allineamento delle sequenze avviene usando frammenti piccoli; le loro sequenze sono poi usate per ricostruire i frammenti lunghi, che sono molto più facili da allineare nel genoma.

La ditta Celera ha introdotto un altro metodo, che non è diverso per principio da quello descritto, ma produce i frammenti piccoli con mezzi fisici. Questo metodo è noto come *shotgun sequencing,* cioè «sequenziamento a colpi di fucile». Esso presenta difficoltà dovute soprattutto alla presenza di sequenze ripetute nel DNA, che possono simulare delle sovrapposizioni; ma questa difficoltà è stata risolta usando frammenti di due dimensioni: 2000 basi per ottenere le sequenze primarie e 10.000 per organizzarle. In aggiunta a ciò, le sequenze venivano

ulteriormente verificate paragonandole a quelle di frammenti di 100.000 basi, ottenute dal consorzio privato e presenti nelle banche dati.

Ci furono inizialmente molti dubbi sull'uso del metodo *shotgun* nel sequenziamento, ma essi furono eliminati da una serie di successi ottenuti. Nel 1995 si sequenziò il genoma di un batterio lungo 1,8 milioni di basi, con risultati soddisfacenti; questo portò all'adozione più generale del metodo. Poi nel 1999 le sue possibilità vennero messe alla prova dalla ditta sequenziando il DNA del moscerino Drosofila, di 120 milioni di basi, usando la procedura a due stadi. Questo genoma era già da molti anni soggetto a studi di genetica che avevano portato all'individuazione, con metodi funzionali, di vari geni. I risultati ottenuti con il sequenziamento furono ottimi, perché nella sequenza si poterono individuare quasi tutti i geni già noti. Questo indusse gli scienziati della ditta ad applicare il metodo al sequenziamento del genoma umano. Il consorzio pubblico usò il metodo *shotgun* solo per generare i piccoli frammenti usati per il sequenziamento. Un contributo essenziale al risultato finale per entrambi i gruppi fu dato dall'uso di metodi di informatica molto efficienti e raffinati per esaminare le sequenze e paragonarle l'una all'altra. Senza di essi l'allineamento dei frammenti sarebbe stato impossibile.

Per tutti i metodi di sequenziamento ci sono problemi tecnici, fondamentalmente di due tipi. Uno è la presenza in tutti i genomi, sebbene in grado variabile, di segmenti che sono molto difficili da clonare; essi vengono perciò omessi, per cui la sequenza ha dei «buchi» difficilmente colmabili. L'altro problema è la presenza di sequenze ripetute, che possono essere molto abbondanti, come avviene nel genoma umano. Tale presenza può portare ad allineamenti erronei dei segmenti, se sono presenti nelle loro aree terminali. Questo e altri problemi sono stati quasi completamente eliminati negli ultimi anni, cosicché oggi c'è meno di una base erronea per 100.000 basi. Molti di tali errori hanno poco significato; solo uno per 6 milioni di basi risulta essere significativo, una quantità trascurabile.

Un ulteriore importante problema del sequenziamento del genoma umano è l'origine del DNA. È essenziale evitare possibili differenze sessuali o dovute all'origine etnica. Perciò si è prelevato il DNA da persone di diverse origini e lo si è poi mescolato insieme. Il DNA viene estratto o dai globuli bianchi del sangue donato, oppure da colture di queste cellule rese immortali. Non si sono incontrate difficoltà seguendo questa procedura. Però bisogna riconoscere che i DNA esaminati sono stati pochi, per cui differenze localizzate della sequenza possono apparire

assenti. Queste differenze, note come «polimorfismi», cioè presenza di molte forme, di solito non hanno di per sé effetti riconoscibili sulla persona in cui si trovano, ma sono molto importanti per distinguere i DNA di persone diverse e per identificare i loro geni.

I risultati del Progetto Genoma

L'unità della vita

I risultati ottenuti in un periodo di tempo molto breve (circa tredici anni) sono stati veramente straordinari, molto più di ciò che ci si poteva aspettare quando il Progetto fu proposto. Sono stati sequenziati più di 40 genomi, inclusi quelli dell'uomo, del moscerino della frutta (la Drosofila), del verme (il *C. elegans),* di piante, di molti parassiti e batteri. Molti altri organismi sono in via di sequenziamento o sono progettati.

Il risultato fondamentale che è emerso da questo lavoro è l'unità della vita; moltissimi geni di tutte le specie sono così simili tra loro che certamente sono tutti derivati dall'evoluzione di geni primordiali. Inizialmente, lo scopo delle ricerche era di scoprire differenze tra genomi come base della loro individualità; ma, al contrario, il risultato è che tutti i geni di specie diverse mostrano somiglianze considerevoli, molto più che se fossero generate a caso. Per esempio, il 30% delle sequenze del lievito e dell'uomo sono simili. Non sono identiche, perché i geni non hanno bisogno di essere identici per produrre lo stesso risultato, ma hanno molte sequenze in comune, specialmente quelle più importanti per la funzione. Le somiglianze dimostrano che tutti i geni sono parte di un singolo universo, indipendentemente dalla specie.

Come è possibile che ciò sia avvenuto? Tutto questo sembra contraddire l'idea che i geni abbiano un ruolo essenziale nel determinare le caratteristiche di diverse specie. Ma questo è possibile perché un gene non funziona da solo. Ciascuno lavora invece in consonanza con gli altri geni del genoma, e l'interazione accentua gli effetti delle piccole differenze esistenti tra geni corrispondenti in specie diverse; per esempio, ci possono essere differenze nel momento preciso in cui un gene entra in azione, o nella quantità di proteina prodotta. La situazione può esser paragonata a quella della costruzione di un'automobile: si usano le stesse parti, le stesse valvole, gli stessi pistoni eccetera; ma in ogni modello il numero di cilindri è diverso o il tempo di esplosione è differente, cosicché il comportamento

è molto diverso.

Le somiglianze tra i geni delle varie specie dimostrano che tutti gli organismi presenti sulla Terra sono connessi tra di loro attraverso l'evoluzione. Alcune delle somiglianze sono veramente impressionanti, e dimostrano come avvenne l'evoluzione: per esempio, i geni che controllano la moltiplicazione delle cellule sono quasi identici in tutti gli organismi al di sopra dei batteri, cioè quelli che hanno un nucleo, dal più semplice, come il lievito, che è fatto di cellule singole, agli esseri umani, che contengono miliardi di cellule. Evidentemente, durante l'evoluzione, dopo che il meccanismo di moltiplicazione cellulare venne standardizzato negli organismi più semplici, fu mantenuto in quelli più complessi che ne derivarono. E questo vale per molti altri geni che hanno una varietà di compiti. Le somiglianze possono anche esistere a livello di interi segmenti del genoma, per esempio quelli del topo e degli esseri umani hanno in comune circa 50 regioni. Di nuovo, possiamo attribuire queste somiglianze al meccanismo dell'evoluzione, che, mentre costruisce un nuovo genoma, mantiene il più possibile di quelli precedenti. Un altro meccanismo evolutivo è stato svelato dall'osservazione che nel genoma umano ci sono 233 geni molto simili a quelli dei batteri, ma che sono assenti nei genomi del lievito, del moscerino e del verme. L'assenza di quei geni in tali specie indica che essi vennero trasmessi direttamente dai batteri a un genoma precedente a quello umano, ma evolutivamente successivo a quelli degli organismi che non hanno quei geni. La capacità dei batteri di trasferire geni agli organismi che infettano è sfruttata nella tecnologia genetica delle piante per introdurvi geni estranei.

Un'osservazione veramente notevole che mostra come è avvenuta l'evoluzione è la presenza nel genoma di coppie di geni molto simili, derivate dalla duplicazioni di geni preesistenti. Le osservazioni mostrano che duplicazioni di geni sono state molto frequenti, cosicché oggi gruppi di geni presenti in parecchi cromosomi hanno corrispondenza in altri cromosomi. Nel genoma umano ci sono un migliaio di duplicazioni, che complessivamente coinvolgono circa 10.000 paia di geni. L'organizzazione dei geni che fanno parte delle duplicazioni è molto interessante. Per esempio, 64 dei geni presenti sul cromosoma 18 hanno una copia sul cromosoma 20, ma non sono distribuiti nello stesso modo sui due cromosomi, come ci si aspetterebbe da una semplice inserzione della copia di un segmento di uno dei cromosomi nell'altro. La lunghezza del DNA contenente i geni nel cromosoma 18 è di 36 milioni di basi, mentre sul

cromosoma 20 è di 28 milioni; e la distribuzione dei geni è diversa perché quelli sui due cromosomi sono separati da segmenti privi di geni o che ne contengono altri. Il quadro che ne deriva è l'inserzione della copia di un lungo segmento di un cromosoma in un altro cromosoma in un tempo molto antico, seguito da molti rimaneggiamenti, con inserzione di nuovi segmenti e scambi di segmenti anche entro lo stesso cromosoma.

Ne risulta un'immagine molto dinamica dei genomi, non statica come si potrebbe pensare. Questo dinamismo è ulteriormente arricchito dalla presenza di segmenti di geni che si comportano come i genomi di certi virus, per cui possono inserirsi nel DNA e, una volta stabilitisi, dar luogo a copie di se stessi che vanno a posizionarsi in altre parti del DNA. Sono dunque potenzialmente invasivi, ma evidentemente vengono mantenuti sotto un relativo controllo. Questi elementi sono probabilmente responsabili di un'altra duplicazione di geni, rivelata dalla presenza di copie di geni che sono completamente privi di introni; questi geni possono essere attivi, cioè possono produrre una proteina funzionale, ma più spesso mancano di questa possibilità, cioè sono «pseudogeni». La presenza dei geni privi di introni dimostra che essi vennero prodotti partendo da messaggeri dei geni corrispondenti (che non hanno introni), attraverso una trascrizione inversa, dall'RNA al DNA.

L'unità dei genomi è di grande utilità per definire le funzioni dei geni nel genoma umano - fase successiva del Progetto Genoma - perché l'informazione ottenuta in una specie può essere estesa alle altre. Per questa ragione il sequenziamento del genoma del topo e del ratto, ora completi, saranno di grande utilità per lo studio dei geni umani, perché le funzioni di molti geni del topo sono state già determinate in passato studiando gli effetti di alterazioni genetiche (mutazioni) indotte chimicamente; questa conoscenza renderà più facile assegnare funzioni ai geni umani perché l'80% dei loro geni trovano un riscontro nell'uomo.

Il sequenziamento di genomi di parassiti e batteri è molto importante anche per arrivare a una comprensione molecolare delle malattie che essi provocano, nonché per identificare i geni responsabili della loro patogenicità e di quelli che questi agenti usano per aggirare le difese dell'organismo infetto. L'enorme aumento delle conoscenze in questo campo lo possiamo vedere in un dato molto semplice ma convincente: nel genoma del parassita *Candida albicans,* che causa infezioni della bocca, della vagina e generalizzate, sono stati rapidamente individuati, grazie al sequenziamento, 86 nuovi geni, la metà dei quali erano sconosciuti

nonostante il parassita fosse stato per molti anni oggetto di ricerche genetiche. Conoscenze di questo tipo sono essenziali per poter sviluppare nuove terapie o strategie preventive contro agenti morbosi che finora hanno resistito a ogni altro approccio, come nel caso della malaria.

Il genoma umano

Considerando ora i risultati ottenuti sul genoma umano, dobbiamo ammettere che sono rivoluzionari. Un effetto veramente notevole è il cambiamento radicale nella nostra concezione del genoma. Finora si pensava che i geni che lo costituiscono lavorassero in modo indipendente, ciascuno esercitando la sua funzione, secondo un piano che li includesse tutti. Ora dobbiamo riconoscere che i geni non sono indipendenti, ma funzionano in gruppi, spesso molto numerosi. Le ragioni e le implicazioni di questo cambiamento saranno discusse in seguito.

Ci sono anche molte altre conseguenze. Cose che sembravano impossibili solo qualche anno fa ora si cominciano a fare. Per esempio, nel passato l'identificazione e l'isolamento di un gene richiedeva anni, qualche volta anche una diecina, mentre oggi, avendo a disposizione la sequenza e una serie di marcatori distribuiti su di essa, è solo questione di pochi mesi. Le possibilità di nuove scoperte sono ormai strabilianti. Per esempio, cercando sequenze simili a quelle di un gene già noto che controlla il movimento delle proteine entro le cellule, si sono rapidamente scoperti 31 nuovi geni che gli somigliano. E risultati simili si stanno ottenendo con numerosi altri geni.

Come vedremo nell'ultima sezione di questo libro («Il futuro»), la conoscenza di tutti i geni umani aprirà molte strade nuove e faciliterà il progresso in quelle già aperte. Prima di tutto, cominciamo a capire bene come è fatto l'uomo e la sua relazione con le altre specie. In secondo luogo, potremo identificare le cause di tutte le malattie in cui sono coinvolte alterazioni genetiche; questo permetterà di identificare individui predisposti fin dalla nascita a certe malattie, aprendo la strada a nuovi metodi di prevenzione. Si presenteranno nuove vie terapeutiche grazie all'intervento sui geni o sui loro prodotti, le proteine. Si creeranno nuovi farmaci, mirati più precisamente alle peculiarità di individui diversi, in modo da ridurre tanto le differenze di efficacia che si incontrano ora, quanto gli effetti sfavorevoli osservati in alcuni individui.

Consideriamo ora l'informazione che è già stata ottenuta. Oggi possiamo analizzare i risultati di tipo generale.

Vediamo dapprima i risultati odierni a paragone di quello che si pensava in passato sull'organizzazione del genoma. Certi dati confermano quanto si sapeva: per esempio, la dimensione totale, che si supponeva essere di 3 o 4 miliardi di basi, viene ora confermata essere di circa 3 miliardi, un numero equivalente a quello delle persone presenti in 200 guide telefoniche di città grandi quanto New York. Le sequenze ripetute sono circa la metà di tutto il genoma, anche questo in buon accordo con quanto si era già dedotto.

Identificare i geni

Dove c'è una differenza marcata tra i risultati di oggi e le aspettative di ieri è nel numero dei geni. Nel passato le stime erano fortemente diverse l'una dall'altra, e variavano da circa 30-40.000 a 140.000; ma la cifra più alta sembrava la più verosimile. Oggi i risultati ci dicono che i geni sono al minimo 25.000 e al massimo 40.000. Ma nemmeno questi risultati ci danno un numero preciso: le cifre presentano ancora una considerevole incertezza, che dipende dalle difficoltà di identificare i geni nella sequenza. Infatti la presenza di un gene in una sequenza non è ovvia: non basta una sbirciatina, non saltano all'occhio. No, sono ben nascosti, e bisogna usare metodi molto sofisticati per scovarli. Malgrado la loro raffinatezza, questi metodi sono soggetti a qualche errore.

Un metodo per identificare i geni è quello di paragonare le sequenze del genoma con quelle dei frammenti di messaggeri che da molto tempo si vanno accumulando nelle banche dati. Un'identità di sequenza con un frammento indubbiamente identifica un gene. C'è però un problema: che di frammenti di messaggeri ce ne sono troppi, alcune centinaia di migliaia. Questo è dovuto al fatto che i frammenti sono molto più piccoli dei messaggeri stessi, e spesso un messaggero dà luogo a più frammenti. Perciò se si ritenesse di aver identificato un gene ogni volta che si localizza uno dei frammenti sul genoma, se ne otterrebbe un numero eccessivo. Si può evitare l'errore identificando precisamente il sito di localizzazione di un frammento sul DNA, cosa che ora si sta facendo; allora si troverà che i vari frammenti corrispondenti allo stesso gene si localizzano insieme su di esso. Questo metodo ha una limitazione: può identificare solamente geni di cui sono stati isolati frammenti di messaggero, quindi è probabile che

questa collezione sia incompleta.

Un secondo metodo per identificare i geni consiste nell'analisi delle sequenze, perché certe parti di un gene tendono ad avere sequenze abbastanza caratteristiche e distinguibili. Ci sono oggi programmi di computer molto intelligenti, che permettono di arrivare a una diagnosi con ragionevole accuratezza, pur senza certezze definitive, dato che la probabilità di errore varia dal 5 al 15% in entrambe le direzioni, cioè o mancando di riconoscere un gene, oppure identificando un gene dove non c'è.

Un criterio per accertare l'esistenza di un gene nel genoma umano è la presenza di sequenze molto simili in genomi di altre specie, perché sappiamo che i genomi sono fortemente correlati. Di solito si usano come riferimento i geni noti del topo o del ratto, che sono stati esplorati geneticamente più di qualunque altro mammifero. Un altro criterio importante è la possibilità di attribuire a un presunto gene una funzione specifica. Il risultato ottenuto usando tutti questi criteri è che il numero di geni «sicuri» è di circa 25.000, mentre il numero di quelli possibili può arrivare a 40.000. Questo in paragone ai geni accertati nel moscerino (13.000), nel verme (18.000) e nel lievito (6000). Il topo e altri mammiferi, come pure le piante, hanno un numero simile a quello dell'uomo.

Numero di geni e complessità

Scoprendo questi dati ci fu molta agitazione perché il numero di geni dell'uomo risultava molto più piccolo di quello stimato, che molti pensavano fosse tra i 100.000 e i 140.000. Il numero piccolo sembrava diminuire lo status dell'uomo nella natura, sembrava rimpicciolirlo, renderlo più umile. Pareva che non fosse più possibile considerare l'uomo come il centro dell'universo biologico, se aveva lo stesso numero di geni del topo, e solo il doppio di quelli del moscerino della frutta.

Però queste idee e timori non sono biologicamente validi. La superiorità dell'uomo su altre specie è nella sua complessità. Da molti punti di vista, l'uomo è molto simile allo scimpanzè, ma se ne distingue per le sue abilità mentali che sono infinitamente superiori, e anche per qualche abilità corporea importante, come la possibilità di opporre il pollice alle altre dita; il che permette all'uomo di fare con le sue mani cose che allo scimpanzè sono precluse. Perciò la vera domanda consiste nell'origine della

complessità di un essere vivente.

Questa dipende certo dai suoi geni, ma non solo dal loro numero. Quello che è importante è il numero di funzioni differenti che i geni possono compiere, e perciò il numero delle proteine specificate da ciascun gene. Ed esso varia per numerose ragioni. I geni non sono pezzi unici, ma ciascuno è un insieme di pezzi, separati da segmenti estranei, gli introni. I vari pezzi possono essere utilizzati in numero variabile e in associazioni diverse per formare il messaggero e perciò le proteine. Nell'uomo il numero medio di segmenti codificanti, cioè che determinano la struttura di proteine, entro un gene è di 7, perciò le possibilità di produrre messaggeri multipli sono notevoli. Molti geni ne hanno parecchi di più, al massimo 234: il numero possibile di messaggeri prodotti da questo gene è inimmaginabile (e infatti non sappiamo quanti ne abbia). Bisogna inoltre ricordare che i vari messaggeri prodotti dallo stesso gene hanno funzioni completamente distinte, producendo proteine molto diverse per struttura e funzioni.

Una volta che un messaggero è fatto, non è detto sia definitivo. Nelle cellule ci sono metodi per modificarli in modo da conferire loro funzioni diverse. Poi i vari messaggeri possono avere durata di vita diversa e dar luogo a quantità diverse delle varie proteine. Anche le proteine, una volta costruite, vanno incontro a molte modificazioni, con l'aggiunta di zuccheri oppure di gruppi chimici come il fosfato, o ancora vengono tagliate a pezzi; tutte queste modificazioni generano proteine con funzioni diverse dalla proteina originaria. A causa di tutti questi meccanismi, il numero finale di tutte le proteine è parecchie volte il numero dei geni, e questo contribuisce alla complessità generale.

Ma la cosa ancora più importante per determinare la complessità funzionale del genoma è il controllo dei geni. In ogni cellula tale controllo è infatti determinato da reti d'informazione costituite da molte proteine, specificate da altrettanti geni e da siRNA. Ma una proteina può modificare l'attività di più di un gene, e ogni gene può essere modificato da più proteine; oltretutto, le proteine si influenzano reciprocamente. In aggiunta, le cellule di cui l'organismo è formato non agiscono semplicemente addizionando le loro attività: i vari tipi di cellule interagiscono tra di loro scambiando informazioni. Così alle reti di informazione presenti nelle cellule si aggiungono le reti costituite dalle interazioni tra cellule. Perciò l'organismo è controllato da una rete di informazione di estrema complessità, tale che i biologi possono descriverne solo alcuni dettagli; l'insieme è ancora oltre le possibilità della ricerca, sebbene, come

vedremo, con lo sviluppo del Progetto Genoma e delle tecnologie a esso associate, la possibilità di comprenderlo intieramente diventa sempre più probabile.

Infine, un altro elemento importante è che i geni funzionano spesso in relazione all'ambiente che circonda l'organismo. Per esempio, nell'uomo queste interazioni determinano molte caratteristiche, specialmente nello sviluppo e nel funzionamento del cervello. Infatti è stato stabilito che parti del cervello la cui attività è richiesta frequentemente sviluppano circuiti più sofisticati. Anche per questo la complessità di ogni specie è molto più grande di quella determinata dai geni. Purtroppo, come questo fattore contribuisca alla diversa complessità di specie diverse non lo sappiamo ancora. Tutti questi fattori indicano comunque che la complessità funzionale dell'uomo non è necessariamente il doppio di quella del moscerino della frutta; può certo essere molto di più. Però quale sia il rapporto lo sapremo quando la ricerca ci dirà in dettaglio come si comportano i geni delle due specie ai vari livelli di espressione.

Ma, certamente, avere lo stesso numero di geni non significa avere la stessa complessità funzionale. Questo lo vediamo anche nel paragonare i geni dell'uomo con quelli dello scimpanzè, la specie più vicina a noi. Più che differenze di numero ci sono differenze funzionali: nell'uomo i geni dedicati alla trasmissione di segnali sono più numerosi, indicando con ciò che l'uomo è più adattabile, cioè può reagire in più modi a cambiamenti dell'ambiente. La diversità esiste specialmente nel cervello, sulla base di studi dell'attività di 20.000 geni delle due specie: le differenze maggiori, coinvolgenti poco più di un centinaio di geni, furono riscontrate nella corteccia cerebrale, la parte più recente del cervello, mentre negli altri organi studiati (per esempio il fegato e il sangue) essenzialmente non se ne trovarono. Ciò può spiegare perché le differenze più notevoli tra l'uomo e lo scimpanzè concernono le attività mentali.

In conclusione, la complessità delle attività di un organismo dipende solo in parte dal numero dei suoi geni, ma principalmente dal modo in cui questi sono usati. È come in un computer: l'aumento di complessità non si ottiene soltanto inventando nuovi pezzi per la sua costruzione (che corrisponderebbero ai geni), ma nuovi metodi per connetterli.

Dalla sequenza alla funzione

La sequenza del genoma ha molte implicazioni per capire l'organizzazione degli esseri viventi, per esempio nel dare indicazioni generali ma molto utili sulla costituzione e sul funzionamento dei prodotti dei geni, le proteine. Infatti la sequenza delle basi di un gene permette di determinare la struttura della proteina, cioè la sequenza dei tasselli che la compongono, gli amminoacidi; dalla loro sequenza si possono dedurre alcune informazioni sulla localizzazione nella cellula e sul tipo di funzione che essa svolge. Per esempio, si possono distinguere proteine localizzate entro la cellula da quelle inserite nella membrana che la circonda; tra queste ultime si possono identificare quelle che hanno funzione di ricettore, cioè ricevono segnali da contatti con sostanze al di fuori della cellula e li trasmettono all'interno. Si possono identificare certi tipi di proteine con funzioni regolatrici di geni. Però bisogna riconoscere che tutte queste indicazioni sono utili solo come primo stadio per determinare l'attività delle varie proteine, mentre non ci dicono in quali cellule una proteina sia attiva; se è un ricettore, non ci dicono da che tipo di molecola riceva il segnale e quale sia il segnale e a che funzione sia diretto; se è una proteina regolatrice, non ci dicono con quali geni interagisca. Queste e altre domande simili sono il vero cuore del lavoro che rimane da fare, un lavoro molto esteso, che sarà centrato sull'organizzazione del genoma rivelata dalla sua sequenza. Un esempio della vastità del problema è che, sebbene i geni di un microorganismo come il lievito siano conosciuti già da tempo, solo un terzo delle loro funzioni sono state determinate; e queste erano le funzioni più facili da riconoscere.

I geni e il mondo biologico

Oltre il genoma: il trascrittoma

La conoscenza del genoma è il primo passo di un lungo percorso che porterà a conoscere noi stessi, le nostre forze e le nostre debolezze. I geni sono soltanto l'informazione di base, che poi deve essere interpretata e trasformata in azione. Il genoma è come un libro scritto nel linguaggio del computer, che poi deve essere stampato e, infine, deve essere letto. La stampa del libro richiede una macchina speciale, una stampante a cui si inviano i messaggi del computer, in modo che vengano letti e tradotti in caratteri in bianco e nero. La stampa dell'informazione dei geni usa il processo di trascrizione per produrre i messaggeri, che vengono poi tradotti nelle proteine, le molecole che mettono in atto l'informazione dei geni.

Quando la stampa sarà completata, conosceremo tutto il mondo delle proteine, cioè il «proteoma», e il compito principale sarà di leggere quel libro, che è il libro della nostra vita. Esso ci permetterà di conoscerci a fondo, di sfruttare i punti di forza e cercare di rimediare alle nostre debolezze, così da condurre la vita più adatta e più soddisfacente in relazione alle circostanze in cui viviamo. Ma avere il libro di per sé non porterà a questi risultati: essi dipenderanno da noi, dalla nostra volontà di leggerlo, da quello che ne ricaveremo consultandolo, e dalle azioni che vorremo intraprendere sulla base dell'informazione che ne avremo acquisito.

Sarà un processo molto lungo. Oggi siamo entusiasmati dal grande successo ottenuto nel leggere tutta l'informazione del genoma. Dobbiamo mantenere lo stesso entusiasmo per andare avanti, ben sapendo che il cammino non sarà facile. Non procederemo su una lussuosa limousine; bensì andremo avanti passo dopo passo, ma la strada che era chiusa fino a poco tempo fa è ora aperta.

Il mondo dei trascritti

La parola «trascrittoma» descrive l'insieme dei trascritti dei geni, specialmente le loro parti più significative, cioè i messaggeri. La giustificazione per introdurre questo termine è che adesso, conoscendo la sequenza del genoma umano e di altri organismi, è molto più facile identificare i messaggeri e studiare che significato hanno nel funzionamento degli organismi, non solo a livello dei singoli geni, ma a quello dell'intero genoma, studiando l'insieme dei trascritti e dei messaggeri. È anche possibile conoscere molto meglio il significato dei processi di trascrizione e di *splicing*, che dal gene conducono al messaggero.

Si potrebbe obbiettare che oramai sappiamo tutto della trascrizione dei geni, perché di frammenti di messaggeri umani ne sono stati raccolti centinaia di migliaia, da cellule di molti tipi e a molti stadi dello sviluppo; e lo stesso vale per altri organismi. Essi dovrebbero esser sufficienti. Però c'è un problema: nelle raccolte di frammenti di messaggeri molti dei frammenti sono duplicati o triplicati, essendo derivati dai trascritti dello stesso gene. Il pericolo di duplicazione è grande perché non si sa da che parte del messaggero i frammenti siano derivati. La situazione potrebbe esser migliorata raccogliendo messaggeri interi anziché frammenti; in alcuni casi questo si sta facendo, ma è difficile. Un altro problema è che la raccolta dei frammenti non dà informazione sul processo di *splicing,* che, come abbiamo visto, è molto importante e ha parecchie ripercussioni biologiche. Infine, i frammenti di per sé non danno alcuna informazione quantitativa sullo stato di attività del gene, cioè se uno è più o meno attivo; si sa solo che è attivo nelle cellule da cui un frammento corrispondente è stato estratto. L'attività dei geni deve essere studiata quantitativamente determinando quante volte uno specifico messaggero viene trovato nella collezione di frammenti isolati da una cellula. Parecchi metodi, basati su questo principio, sono già stati sviluppati.

C'è anche una ragione più profonda per pensare al trascrittoma, cioè a un mondo di trascritti, nello stesso modo in cui si pensa al genoma come a un mondo di geni. Come infatti i geni sono tutti connessi tra di loro nell'esplicare le loro funzioni, così lo sono anche i trascritti. Fondamentalmente, un gene non è mai trascritto da solo, perché, in qualunque circostanza, centinaia o migliaia di geni sono trascritti insieme in una cellula. Perciò i trascritti di una cellula, e i messaggeri che ne

derivano, formano sempre un insieme, com'è dimostrato dalla loro attività simultanea. Come investigare questa cooperazione, perché esiste, con quali fini, è appunto il compito dello studio del trascrittoma; questo significa ottenere una visione globale, anziché individuale, delle attività dei geni.

Sforzi per determinare l'attività dei geni presenti in una cellula sono già stati fatti nel passato. Un metodo usava l'analisi di collezioni di frammenti di messaggeri come indicato più sopra. Un altro metodo è stato sviluppato per paragonare l'attività di geni in cellule di due tipi diversi, perché spesso l'attività dei geni in una cellula in certe condizioni di speciale interesse viene paragonata a quella degli stessi geni in condizioni normali. Per esempio, si confronta l'attività dei geni nelle cellule tumorali con quella dei geni in cellule normali dello stesso organo. Questi due metodi hanno già dato risultati utili, ma sono limitati a un numero piuttosto piccolo di geni. Certo non danno una visione globale.

I «microarrays»

Oggi, come conseguenza dello sviluppo del Progetto Genoma, è possibile ottenere una visione globale dell'attività dei geni usando un nuovo metodo, detto dei *microarrays*. Questo nome deriva dallo strumento usato in tale studio, che è stato ispirato dai metodi già usati nella costruzione dei computer: è una piastrina di vetro - un *chip* di vetro - su cui si depositano campioni di vari geni in linee e colonne regolari in condizioni tali che i geni si attacchino al vetro. Perciò ogni gene viene individuato con certezza dalla sua posizione. Da qui *arrays,* cioè linee ordinate. Nei primi tentativi di questa tecnica si depositavano goccette abbastanza grosse contenenti ciascuna molte copie di un gene; perciò si poteva mettere su un *chip* solo un piccolo numero di gocce, usando una tecnica molto semplice. Ma poi sono stati sviluppati metodi più sofisticati, basati su robot automatizzati capaci di distribuire gocce sempre più piccole, e perciò in numero sempre maggiore; e ora è anche possibile costruire le sequenze dei geni sul vetrino. Oggi si adoperano da 10.000 a 40.000 gocce per *chip;* con 40.000 gocce vengono rappresentati tutti i geni umani, inclusi quelli meno sicuri. Così gli *arrays* diventarono *microarrays*.

Per misurare l'attività dei geni in una cellula con questo sistema, si estraggono i messaggeri e li si marca con una sostanza fluorescente che,

esaminata con luce appropriata, produce un certo colore, per esempio rosso. Poi una soluzione contenente l'insieme dei messaggeri così marcati viene depositata sul vetrino dove ci sono i geni; qui, se un messaggero trova il gene corrispondente, vi si attacca. In ciascuna goccia ci sono molte copie dello stesso gene, quindi molte copie del messaggero possono attaccarvisi. Se il messaggero di un gene è abbondante nella cellula da cui è stato estratto, parecchie copie si attaccheranno al gene; se invece il messaggero è scarso, le copie attaccate saranno poche. Dopo un certo tempo le varie gocce vengono esaminate con un microscopio a fluorescenza che può determinare non solo se una goccia produce il colore rosso – dimostrando la presenza del messaggero - ma anche l'intensità del colore, rivelando così la quantità del messaggero presente sul vetrino, e perciò nelle cellule, che riflette l'attività del gene.

Il metodo si può usare anche per paragonare le quantità dei messaggeri degli stessi geni presenti in due tipi di cellule, quali cellule cancerose e normali. Per questo scopo si marcano i messaggeri dei due tipi di cellule con sostanze diverse, che danno fluorescenze di diverso colore, per esempio rosso e verde. Quando poi si fa l'analisi del vetrino, i geni che sono attivi solo in una cellula appaiono rossi, quelli attivi solo nell'altra cellula appaiono verdi, quelli attivi in entrambe le cellule hanno un colore intermedio, che varia con le proporzioni relative dei due messaggeri nelle due cellule. Così si può determinare non solo quali geni siano espressi nei due tipi di cellule, ma anche il loro grado di attività.

Durante lo sviluppo della tecnologia dei *microarrays* si sono incontrate molte difficoltà; quella più importante è che si può determinare l'attività solamente dei geni presenti sul *chip.* Questo problema era specialmente serio lavorando con geni umani, perché sono in gran numero e non tutti erano noti. Questa difficoltà è ormai superata perché essenzialmente tutti i geni umani sono noti, e la tecnologia moderna permette di depositare decine di migliaia di campioni su un *chip* o di sintetizzarvi lo stesso numero. Perciò oggi sono in commercio *chips* essenzialmente con tutti i geni umani.

Un altro modo per superare questa difficoltà è di costruire *chips* che contengono i geni rilevanti per un dato problema. Per esempio, per studiare i geni dei tumori di linfociti sono stati raccolti i geni conosciuti rilevanti per lo sviluppo di queste cellule e quelli che partecipano alle loro patologie. Così si è costruito il *linfochip,* con 18.000 geni. Ci sono ora in commercio altri *chips* simili, per esempio *chips* con geni di altre specie

utili per la ricerca genetica, o di organismi che causano infezioni nell'uomo, come l'influenza, il vaiolo, la malaria.

L'utilità di questa tecnologia è anche stata aumentata dallo sviluppo di metodi matematici sempre più raffinati, applicabili usando programmi informatici adatti, per analizzare i risultati e valutarne il significato.

Bisogna notare che il metodo dei *microarrays* misura la quantità di un messaggero esistente a un determinato momento in una cellula, e tale quantità viene accettata come misura dell'attività del gene. Però la misura di tale attività dovrebbe essere basata sulla quantità di trascritto prodotta in un determinato periodo e le due quantità potrebbero essere diverse se messaggeri diversi sopravvivono nelle cellule per periodi differenti. Comunque, al momento attuale si considera che i messaggeri di tutti i geni abbiano vita uguale, il che è, evidentemente, un'approssimazione.

Una risposta globale

Un primo risultato di natura generale ottenuto con il metodo dei *microarrays* è che i geni di una cellula sono molto correlati nelle loro attività. Per esempio, osservazioni fatte su microorganismi o su colture di cellule umane e di altri mammiferi mostrano che un gran numero di geni sono attivi, cioè producono messaggeri, in ogni situazione, e che ogni cambiamento dello stato delle cellule, per esempio la temperatura a cui sono mantenute, la presenza o assenza di certi nutrienti, di fattori stimolanti o di sostanze tossiche nel mezzo di coltura, causa un cambiamento di attività essenzialmente di tutti i geni. Perciò è valido parlare di trascrittoma, in quanto si considerano tutti i geni come un unico insieme. Un'altra osservazione importante è che l'attività dei geni non va incontro a cambiamenti totali, cioè le variazioni non sono SI o NO, ma sono quantitative: PIÙ o MENO. Si può dire che questa proprietà «tampona» il genoma, eliminando il significato di piccole variazioni. L'azione di un gene può anche essere aumentata o diminuita dall'azione di altri geni. Questi controlli quantitativi possono mantenere la funzione di un gene senza effetto in alcuni casi, e permetterne un effetto in altri. Simili proprietà sono importanti nel definire quando la modificazione di un gene si deve considerare patologica, ossia causa di malattia: c'è una soglia oltre la quale il cambiamento è morboso.

I risultati descritti mostrano che nessun gene agisce individualmente, ma

tutti sono connessi da reti di informazione, per cui, se uno muta attività, tale cambiamento è registrato da molti altri geni, che reagiscono a turno, modificando la loro attività. Cambiamenti globali vengono anche osservati durante variazioni fisiologiche dello stato delle cellule, come nell'evoluzione del ciclo di divisione cellulare. Anche durante lo sviluppo di un organo (la «differenziazione») i cambiamenti di proprietà delle cellule sono accompagnati da modificazioni di attività di molti geni. Per queste ragioni il metodo dei *microarrays,* pur non misurando tutti i cambiamenti dei geni, è di grande valore.

I «clusters»

Il potenziale di questo metodo per caratterizzare lo stato complessivo dei geni viene aumentato analizzando matematicamente i dati, usando computer con programmi specializzati, allo scopo di identificare gruppi di geni che producano una risposta comune. Questo è il metodo dei *clusters,* cioè dei «gruppi». Esso si applica a situazioni dove si vuol determinare il comportamento di molti geni usando vari campioni. I risultati ottenuti con questa analisi rivelano caratteristiche che non sono rilevabili con la semplice ispezione delle differenze tra le attività dei geni sul *chip.* Questo metodo ha anche il vantaggio di eliminare differenze tra cellule singole, che potrebbero interferire con lo studio dei geni a cui la ricerca è dedicata. Per esempio, nello studio di un cancro si ha a che fare con cellule di vario tipo: nei campioni analizzati non ci sono solo cellule cancerose, ma anche cellule normali: dei vasi sanguigni, o dello stroma. In aggiunta, l'attività dei geni può variare in alcune cellule perché queste non ricevono nutrimento o ossigeno in quantità sufficiente, oppure perché ricevono segnali da altre cellule con cui sono in contatto, o per altre ragioni. Il metodo dei *clusters* permette di eliminare tali variazioni, concentrando l'attenzione sui geni interessati; esso permette anche di distinguere cellule di tipo diverso presenti nel campione. Risultati simili non si potrebbero ottenere usando i metodi classici per lo studio dell'attività dei geni.

Un esempio dell'uso dei *microarrays* è lo studio del comportamento dei geni nelle cellule cancerose; per fare ciò si studiano molti geni, determinandone le attività in molti campioni derivati da tumori dello stesso tipo. I risultati vengono poi organizzati in una matrice, in cui ogni linea orizzontale denota un gene e ogni colonna verticale denota un campione.

Le colonne vengono poi ordinate in modo da metter vicini i campioni più simili, e lo stesso si fa con le linee, così da raggruppare i geni che si comportano in modo omogeneo. In questo modo si mettono in evidenza dei gruppi di geni che hanno il comportamento più simile in quelle cellule. Ogni gruppo di tali geni costituisce un *cluster*. Il risultato può anche indicare l'esistenza di parecchi gruppi di geni con funzioni distinte nello stesso cancro.

Il metodo dei *microarrays* è stato usato per studiare i cambiamenti che hanno luogo in gruppi di geni durante l'evoluzione di un fenomeno biologico, per esempio la divisione di cellule in coltura. Nell'organismo la maggior parte delle cellule persistono inalterate, senza moltiplicarsi, per un certo periodo di tempo, poi o muoiono o si dividono, cosicché una cellula madre dà origine a due cellule figlie. Il meccanismo della divisione è assai complesso, e uguale in tutte le cellule. Esso è scomponibile in quattro fasi successive a quella normale di riposo, che è identificata come G0. All'inizio della divisione c'è un periodo preparatorio, la prima fase della divisione identificata come G1. Questa è seguita dal periodo in cui il DNA si divide, in modo che ogni molecola dia origine a due molecole figlie uguali: questa fase è indicata come S. Quando tale fase è terminata, c'è un secondo periodo di preparazione, indicato come G2, e finalmente c'è l'ultima fase, quella della divisione vera e propria, la «mitosi», indicata con M, che dà luogo alle due cellule figlie.

L'attività dei geni nelle diverse fasi non si può studiare in colture standard, in cui le cellule si dividono indipendentemente l'una dall'altra, perché in ogni momento la coltura contiene cellule in ogni fase. Per studiare l'attività dei geni le cellule vengono sincronizzate, bloccando per un certo tempo la sintesi del DNA con un inibitore; alla fine del periodo di inibizione le cellule si trovano tutte all'inizio della fase S. Dopo la rimozione dell'inibitore, esse procedono da S a M, e poi continuano nel ciclo successivo, mantenendo la sincronia per alcune divisioni.

In questi studi sono stati usati *chips* contenenti circa 40.000 geni (che includono delle duplicazioni), su cui sono stati depositati messaggeri ottenuti da cellule sincronizzate, prelevati ogni due ore durante due cicli. Sono stati osservati così 12 gruppi di geni che cambiano attività in modo periodico attraverso le quattro fasi e includono circa 700 geni; tra di essi c'erano geni che si sapevano già essere attivi durante la divisione, ma anche molti altri la cui partecipazione nella divisione non era stata precedentemente accertata. Nei vari geni si è potuto riconoscere il ruolo

svolto durante le fasi del ciclo. Per esempio, nella fase G2, che prepara le cellule alla divisione finale, c'è un forte aumento di attività di geni che sono responsabili della motilità necessaria alla separazione delle cellule figlie, e di geni che favoriscono l'adesione tra cellule, necessaria per ristabilire i contatti con altre cellule dopo la separazione. Durante la fase S, in cui il DNA si duplica, c'è un forte aumento dell'attività dei geni addetti a riparare i danni nel DNA, che spesso si producono durante la sua moltiplicazione. Questi e altri risultati sono importanti non solo perché identificano nuovi geni coinvolti in un certo processo biologico, ma anche perché permettono di assegnare una funzione specifica a geni già noti, ma di cui non si conosceva il ruolo nell'organismo. Questi sono i compiti della ricerca dopo il sequenziamento del genoma.

Oltre il genoma: il proteoma

Le macchine della vita

Sebbene il DNA sia importantissimo per il funzionamento di un organismo, esso ne rappresenta soltanto una parte minima, circa un millesimo nell'uomo. Siccome il DNA contiene solo informazione, non è il suo peso ciò che conta: come in un registratore a nastro, il nastro è essenziale, ma senza il resto - il meccanismo che muove il nastro e produce il suono, l'amplificatore, l'altoparlante - non ci sarebbe suono. Nell'organismo una gran parte del peso è dovuta ai macchinari che implementano le istruzioni del DNA. Gran parte di esso è formato da proteine, che sono presenti dovunque: nei nuclei e nel citoplasma delle cellule, al di fuori delle cellule, rivestendole e connettendole tra di loro, nel sangue e in altri fluidi del corpo. Lo studio delle proteine, cioè la proteomica, è basato su metodi, perfezionati in questi ultimi tempi, che permettono la separazione delle proteine presenti in miscele complesse, come quelle estratte da cellule, e la determinazione della loro composizione. La proteomica è complementare alla trascrittomica, perché anch'essa si concentra sul prodotto dei geni. Ma può essere ancora più significativa della trascrittomica, perché per un dato gene misurare la quantità di messaggero può dare informazioni false sul livello della proteina. E, per di più, la proteomica permette di conoscere le modificazioni cui va incontro una proteina, che possono essere molto importanti per la sua funzione.

Per queste ragioni le proteine rappresentano sistemi di informazione molto più sofisticati dei geni da cui derivano. L'aumento di informazione dipende infatti dai contributi di molti altri geni, quelli coinvolti nel determinare gli *splicings* alternativi, le modificazioni grazie all'aggiunta di gruppi chimici di vario tipo, e la frammentazione per produrre proteine più piccole con funzioni nuove.

Come i messaggeri, le proteine devono anch'esse essere studiate in quanto membri di una rete, formata dalle interazioni delle varie proteine

che sono fondamentali per la loro funzione. Le interazioni si studiano isolando i complessi di proteine, o con metodi più sofisticati. Infatti si sta sviluppando un metodo di *array* simile a quello usato per i messaggeri, che può anche essere usato per studiare le interazioni delle varie proteine. È chiaro che i vari metodi per studiare l'attività dei geni ci portano un passo avanti nel cammino iniziato con l'identificazione dei geni stessi. Però da qui c'è ancora molta strada da percorrere, perché bisogna capire qual è il significato biologico delle varie attività dei geni. Infatti, queste attività determinano cambiamenti biologici in modi molto complessi, anche negli organismi più semplici.

Le proteine sono responsabili delle funzioni più disparate del corpo: il movimento dei muscoli, i pensieri, la digestione del cibo, il controllo della crescita e dello sviluppo. C'è una grande varietà di proteine, identificate da nomi che è difficile ricordare, perché anche i più comuni sono acronimi di definizioni di laboratorio dal significato oscuro, eccetto che per gli specialisti. Per sapere dove è collocata ogni proteina nel corpo, ci sarebbe bisogno di un atlante come quelli geografici.

Le proteine possono compiere tutte queste funzioni perché hanno proprietà uniche, sono multiformi, molto versatili e flessibili. Questo dipende da come sono fatte. La loro costituzione è la chiave per capire come i geni agiscono, sia nello sviluppo dell'organismo sia nel suo funzionamento. In aggiunta, tutte le malattie sono, alla fin fine, dovute al funzionamento anormale di proteine; quindi le applicazioni più utili della conoscenza dei geni sono collegabili alla conoscenza delle proteine, come sarà sempre più visibile nel futuro.

La formazione delle proteine. Il codice genetico

Le proteine sono costituite da elementi noti come «amminoacidi», connessi tra di loro in numero variabile, da poche centinaia a parecchie migliaia, in forma di cordicelle. Ci sono 20 tipi di amminoacidi; ogni posizione nella cordicella può essere occupata da ogni tipo di amminoacido, per cui il numero di proteine possibili è enorme. Per esempio, una proteina con 1000 amminoacidi può essere fatta in talmente tanti modi che il numero capace di descriverli si aggira intorno a qualcosa come un 1 seguito da sessanta zeri. Evidentemente solo una piccola proporzione di questa enorme varietà è presente in natura.

Ciò che una proteina può fare dipende in primo luogo da come i suoi amminoacidi si susseguono, uno dopo l'altro, sulla cordicella; il loro ordine riflette fedelmente l'informazione del gene, cioè la sua sequenza. Il trasferimento di informazione dall'uno all'altro è una «traduzione» perché le lingue sono diverse. Come questo trasferimento avvenga è stato un problema che è rimasto insolubile per parecchio tempo. Ora invece si sa che la chiave di questo trasferimento è il «codice genetico», che stabilisce la relazione tra i due linguaggi, quello delle basi del DNA e quello degli amminoacidi nelle proteine. Fin da principio si capì che ci vuole più di una base per definire un amminoacido, a partire dal numero minimo di 3. Le 4 basi, prese in gruppi di 3 in ogni ordine possibile, formano 64 gruppi diversi, che sono più del necessario per definire i 20 amminoacidi; ma se ne prendessimo 2 per gruppo ne formerebbero solo 16, cioè troppo pochi.

Queste idee furono confermate sperimentalmente dimostrando che la natura usa gruppi di 3 basi, le «triplette», per definire un amminoacido. Questo fu dimostrato costruendo nel laboratorio cordicelle formate da triplette, e determinando il tipo di proteina prodotta usando un sistema di traduzione semplificato che è attivo in vitro. La prima dimostrazione fu data da una sequenza formata solo da ripetizioni della stessa base, che, con grande stupore del ricercatore, causò la formazione di una catena che usava un solo amminoacido, ripetendolo indefinitamente; la tripletta che specificava quell'amminoacido era formata da 3 basi uguali.

Però la maggior parte degli amminoacidi sono definiti da triplette con basi diverse. Non c'è nessuna razionalità nella corrispondenza di una tripletta con il suo amminoacido: probabilmente durante l'evoluzione il codice si sviluppò in modo accidentale, e fu mantenuto perché funzionava. Questo è un principio base dell'evoluzione. È anche possibile che il codice si sia sviluppato inizialmente usando solo 2 basi, e solo quando il numero di amminoacidi aumentò si aggiunse la terza lettera. Infatti la maggior parte dell'informazione nelle triplette è contenuta nelle 2 prime lettere, e molti amminoacidi sono specificati interamente da 2 basi soltanto, perché come ultima base se ne può aggiungere una qualunque.

Il numero delle triplette possibili è molto maggiore del numero degli amminoacidi; l'eccesso permette l'uso di più triplette per specificare un singolo amminoacido: in qualche caso 6. Questa relazione non introduce ambiguità nella traduzione del messaggio perché una certa tripletta definisce sempre lo stesso amminoacido. Ci sono poi triplette che non sono usate nella traduzione ma hanno altri ruoli. Una di esse indica l'inizio della

proteina, l'altra la sua fine; questo è necessario perché il messaggero è più lungo di quel che sarebbe necessario per specificare la proteina: le sequenze extra a entrambe le estremità hanno quindi ruoli speciali. La tripletta iniziale è particolarmente importante, perché nel messaggero le triplette per i vari amminoacidi non sono identificate in alcun modo; esse vengono definite solo contando 3 basi alla volta partendo dall'inizio. Se questo non fosse nella posizione giusta sarebbe un disastro. Perciò la costruzione di una proteina segue una serie di istruzioni: INIZIA - LEGGI TRIPLETTE UNA DOPO L'ALTRA - FERMA - RILASCIA LA PROTEINA.

Qualunque alterazione di queste istruzioni dà luogo a una proteina malformata. Per esempio, se c'è uno spostamento di fase all'inizio o durante la traduzione, la proteina non ha senso. Sarebbe come alterare la posizione degli intervalli in uno scritto: prendiamo la frase: «I geni e il nostro futuro», che diventerebbe in un caso: «Ig eniei lnostrof uturo» e nell'altro: «Igen iei lnostr ofuturo». In ogni caso un disastro. Cambiamenti di fase occasionalmente avvengono o per l'inserzione di una base in più, o per il mancato inserimento di una necessaria; entrambe le situazioni si osservano in malattie genetiche ereditarie. Un'altra causa di proteina grossolanamente malformata è l'inserzione della tripletta che indica la fine della proteina al posto di una che specifica un amminoacido: allora la proteina rimane incompleta ed è generalmente incapace di funzionare. Anche questo difetto viene osservato abbastanza spesso nelle malattie.

L'importanza della struttura

Ci sono altri aspetti dell'organizzazione delle proteine che sono essenziali per la loro funzione, nonché per capire come le malattie vengono causate dall'alterazione di un gene. Questi nuovi aspetti risultano dalle modificazioni della catena di amminoacidi costituenti il filamento prodotto inizialmente, che sono essenziali per il funzionamento della proteina. La ragione è che le proteine funzionanti sono delle strutture solide, non dei filamenti, e vengono formate dal ripiegamento dei filamenti originari per formare delle specie di gomitoli. Questo stadio, noto come *folding* (o «ripiegamento») è perciò cruciale. Il processo che conduce dal filamento al solido è affascinante ma misterioso. La cosa interessante è che i legami tra le varie anse del filamento nel solido sono molto deboli, per

cui si potrebbe sospettare che la struttura del solido sia molto labile; invece si osserva che il solido prodotto da un certo filamento è sempre lo stesso, mentre quelli fatti da filamenti diversi sono anch'essi diversi. Perciò c'è un codice del *folding* che non è ancora stato decifrato.

Si hanno tuttavia idee generali di come il *folding* avviene. Esse sono basate sul fatto che gli amminoacidi costituenti una proteina hanno proprietà diverse: alcuni, in una soluzione acquosa, tendono ad associarsi, mentre altri tendono a respingersi; e alcuni amminoacidi (idrofili) nuotano bene nell'acqua perché si legano a essa, mentre altri (idrofobi) non vi si legano e non possono nuotare. Quando un filamento è fatto nell'ambiente acquoso della cellula, gli amminoacidi idrofobici immediatamente si attaccano l'uno all'altro, come gocce di olio in acqua, e così obbligano il filamento a ripiegarsi formando anse tutte unite insieme in un mucchio. Le varie parti del filamento continuano a muoversi in modi irregolari, e così i vari tipi di amminoacidi vengono in contatto tra di loro; quando due che tendono ad associarsi vengono in contatto, si uniscono, mentre quelli che si respingono si allontanano. Inizia così una danza delle varie parti del filamento, che, usando l'energia dell'ambiente, porta a un consolidamento progressivo, producendo il massimo numero di associazioni tra i vari amminoacidi compatibile con la costituzione del filamento. Questa però non è una struttura stabile, come una pietra o un diamante; anche quando la forma finale è stata raggiunta, la danza continua, ma in modo ristretto, e non cambia la struttura generale.

La danza, le contorsioni della proteina, non sono solo la chiave per la sua formazione, ma anche per la sua attività. Le proteine funzionano infatti attaccandosi l'una all'altra o ad altre molecole, come il DNA. Quando si stabilisce un contatto, i due partner si adattano l'uno all'altro formando un nuovo solido che li comprende tutti e due; continua così la danza, basata su attrazioni e repulsioni tra componenti di entrambe le molecole. E può avere risultati finali molto diversi. In alcuni casi, i due partner formano un'associazione permanente, anche molto forte, come nel caso dei tendini, che connettono i muscoli allo scheletro e sono formati da molecole di collagene attaccate insieme. In altri casi succede l'opposto: l'associazione dura poco, come nel caso delle proteine catalitiche note come «enzimi». Certi enzimi si associano a una proteina che agisce come substrato e la rompono in due parti; anche qui le due proteine dapprima si uniscono e formano un solo solido, ma poi la loro danza produce una forte tensione in un legame della molecola (il substrato) fino a spezzarlo; allora le proteine

si staccano. L'enzima riacquista la sua forma originale e i pezzi del substrato rimangono separati.

Le catene di reazione

In questi incontri possono avvenire anche modificazioni chimiche che cambiano fortemente l'attività di una proteina. Un esempio è l'attaccamento di un gruppo di fosfato; siccome questo ha forti cariche elettriche, esercita un potente effetto sulla struttura della proteina, anche se il cambiamento è reversibile, perché la proteina ritorna alla sua forma originaria se il fosfato viene rimosso. Nella cellula tutti questi cambiamenti di svariata natura sono orchestrati da sistemi di regolazione controllati dai geni.

Le modificazioni reversibili delle proteine riflettono la natura della vita, che è in uno stato di flusso, causato dal movimento di energia, cui le proteine partecipano interagendo l'una con l'altra. Una catena di proteine che interagiscono tra di loro in serie può esser paragonata a una catena di uomini che raccolgono terra da un mucchio per buttarla in un pozzo: ciascuno riempie la sua pala di terra e la scarica presso il vicino. Ogni uomo oscilla tra due posizioni, una con la pala diretta in avanti, l'altra con la pala diretta indietro. Se uno si ferma in una posizione, l'intera catena si ferma.

Le proteine si comportano nello stesso modo. Molto spesso appartengono a catene di reazione, e durante la loro funzione oscillano tra uno stato attivo e uno inattivo; nel periodo attivo comunicano con altre proteine o altre molecole, cambiando struttura per un breve tempo e ritornando poi allo stato iniziale, mentre il segnale avanza nelle altre proteine della catena. Se una molecola non può andare incontro ai cambiamenti, o perché il gene è alterato oppure perché la proteina stessa è stata danneggiata da sostanze tossiche, l'operazione della catena si ferma, producendo una malattia.

Le braccia delle proteine

Finora abbiamo considerato ogni proteina come un elemento singolo; ma molte sono come un mosaico di segmenti con proprietà diverse, che

chiameremo «braccia», anche se originate da un unico filamento; ogni braccio termina con una «mano», cioè una struttura che tende a collegarsi con altre strutture o sostanze in modo specifico. Per esempio, nei nuclei delle cellule ci sono proteine che agiscono come ricettori per ormoni, e mediano l'interazione degli ormoni con il DNA. Queste proteine hanno due braccia: uno è disegnato per legarsi al DNA, l'altro per legarsi all'ormone. Però le due braccia non sono indipendenti, perché la proteina può legarsi al DNA solo dopo che si è legata all'ormone. L'ormone, quando si lega a un braccio della proteina, vi produce un riassestamento degli amminoacidi, per cui la superficie cambia caratteristiche ed estende l'altro braccio, che così diventa capace di legare il DNA. In questo modo l'ormone agisce come un segnale che, inducendo la proteina a legarsi al DNA, causa l'attivazione di certi geni. L'uso delle braccia può essere molteplice: in alcuni casi le due braccia della stessa proteina possono interagire con un'altra proteina, rinforzandone l'azione; in altri le due braccia interagiscono con proteine diverse, in modo da ampliare l'effetto dei segnali. Usando le diverse braccia, dei gruppi di proteine lavorano insieme per uno scopo comune. Questi gruppi vengono chiamati «moduli» e possono essere ben localizzati: per esempio, il modulo che costruisce le proteine è costituito da diverse molecole di RNA e possiede molte proteine che, tutte collegate insieme, formano un granulo (chiamato «ribosoma») a cui si attacca il messaggero. In contrasto, anche le proteine che controllano l'attività di un gene formano un modulo, ma esso è diffuso.

La presenza di diverse braccia dipende dalla struttura della proteina, in modo che cambiamenti in una parte ne innescano altri, di vario grado, nelle altre sue parti. La conseguenza è che, se una mutazione nel gene causa la sostituzione di un amminoacido con un altro dalle diverse proprietà di associazione, gli effetti non sono limitati al braccio della proteina in cui il cambiamento è avvenuto, ma si possono diffondere ad altre braccia, con conseguenze che dipendono dalla struttura generale. Questa proprietà è molto importante per comprendere quali possano essere le conseguenze di una mutazione nelle malattie che essa causa.

Proteine e ambiente. Segnali

L'azione dei geni è coordinata con quella dell'ambiente che circonda la cellula. Quando consideriamo un organismo, la parola ambiente descrive

ciò che lo circonda: aria, acqua, altri organismi e così via. Quando prendiamo in considerazione un gene, dobbiamo definire l'ambiente in modo più specifico. Ci sono molti ambienti, non solo uno, a seconda del gene e delle cellule in cui opera. Per esempio, per geni che sono coinvolti nella risposta alla luce, l'ambiente include le caratteristiche della luce, come il suo colore, la sua intensità, se è continua o fluttuante. Per geni coinvolti nelle sensazioni olfattive, l'ambiente include molte sostanze chimiche che potrebbero interagire con le cellule dedicate all'olfatto, come anche molecole che possono modificare le loro interazioni. Infine, per una cellula entro il corpo, l'ambiente include il liquido che la circonda (sangue, linfa), le molecole che contiene, le sostanze o le altre cellule da cui è circondata. L'interazione di un gene con l'ambiente può, perciò, prendere molte forme.

Malgrado queste differenze, il modo in cui un gene risponde a un cambiamento dell'ambiente di una cellula è fondamentalmente lo stesso. La risposta inizia con il riconoscimento del cambiamento, di solito attraverso contatti della cellula con altre molecole. Questo avviene grazie a ricettori incorporati nella membrana cellulare, che ricevono l'informazione. I ricettori sono a cavallo della membrana, con un'estremità fuori della cellula e una dentro di essa. Se paragoniamo una cellula a un edificio, il ricettore sarebbe una sbarra metallica con una maniglia all'esterno per azionare un campanello interno. In vari ricettori la forma delle maniglie è differente, in modo che ciascuna di esse può essere afferrata solo da mani diverse; a ogni tipo di maniglia corrisponde un campanello con un tono distinto. In modo analogo, ogni ricettore riconosce solo un tipo di molecola, e produce un effetto diverso da quello di altri ricettori. Ci sono molti ricettori per ormoni, e ognuno ne riconosce solo uno; il risultato è che cellule diverse rispondono a ormoni diversi perché hanno differenti ricettori. Così le cellule che vengono in contatto con l'insulina possono non reagire se non hanno il ricettore adatto; e se una miscela di cellule è esposta simultaneamente a insulina e ormone della crescita, alcune di loro risponderanno a un ormone, altre all'altro ormone, a seconda dei ricettori che posseggono.

Dopo il contatto con la molecola che riconosce, la proteina del ricettore cambia forma; la modificazione si propaga alla parte che è nella cellula, facendo sì che essa acquisti una funzione nuova, per esempio la capacità di legarsi a un'altra proteina, oppure di indurre un cambiamento chimico, come l'aggiunta di fosfato a un'altra proteina; così il segnale viene

trasmesso e, generalmente, dopo un certo numero di passi raggiunge un gene. La trasmissione del segnale è specifica, perché sia il ricettore sia la catena a cui fa capo sono specifici. La risposta a un contatto del ricettore con l'ormone è di breve durata; presto entrambi vengono assorbiti dentro la cellula e riciclati, mentre un nuovo ricettore rimpiazza quello eliminato. Per mantenere a lungo la risposta sono dunque necessari ripetuti contatti di ricettori con l'ormone. In questo modo la risposta può essere proporzionale alla quantità di ormone che è nell'ambiente.

Il metodo di segnalazione appena descritto è rappresentato da una linea che va dal ricettore al gene. Ma di solito la situazione è più complicata, perché ci sono parecchie linee, che formano una rete. Anche partendo da un solo ricettore, la linea può diramarsi perché una delle proteine modificate influenza a sua volta più di una proteina; mentre in certi casi parecchi ricettori possono convergere sulla stessa linea. Queste complessità spiegano perché un solo ormone può indurre cambiamenti di parecchi tipi in una cellula, inducendovi una differenziazione che modifica numerose caratteristiche come l'attività di molti geni: alcuni inattivi vengono attivati, e altri attivi vengono inattivati.

I segnali che viaggiano tra una cellula e l'altra, o per contatti oppure per molecole che passano da una cellula all'altra, sono importanti durante lo sviluppo di un embrione, quando una cellula che ha acquistato proprietà nuove per attivazione di qualche ricettore attiva a sua volta i ricettori di cellule vicine. Queste vanno incontro a cambiamenti che possono essere identici o no, e che a loro volta mandano segnali ad altre cellule, e così via. In questo modo un segnale può diffondersi attraverso una massa di cellule, cominciando in un punto, fino a che, un po' per volta, tutta la massa è cambiata. L'effetto è stato paragonato alle onde degli spettatori in uno stadio, quando si alzano in sincronia una fila dopo l'altra.

Un esempio di questa situazione si osserva durante lo sviluppo della retina dell'occhio nel moscerino della frutta. In questi insetti la retina è fatta da un disco coperto da 800 unità identiche, ognuna costituita da 8 cellule che formano una specie di fiore. Lo sviluppo di queste unità comincia da dietro e procede in avanti, una fila dopo l'altra, finché tutto il disco è coperto. Il primo segnale è dato da una cellula nella parte posteriore dell'occhio, attraverso la produzione di una sostanza che chiameremo A. Questa sostanza interagisce con i ricettori presenti sulle cellule vicine, che rispondono in due modi: producono un'altra sostanza, B, e diventano cellule mature della retina. Queste a loro volta cominciano a

produrre la sostanza A, che interagisce con le cellule della seguente, cosicché anch'esse producono B e diventano cellule retiniche. Questo processo va avanti come un'onda che progredisce da un'estremità del disco all'altra, finché tutta la retina è sviluppata. Entro ognuno dei fiori con otto cellule, una cambia e poi trasmette segnali alla cellula vicina, e così via finché l'intero fiore è sviluppato. La retina umana ha una forma diversa, ma il suo sviluppo procede in modo analogo, pur se comincia al centro e di lì si sparge verso la periferia.

In conclusione, il completamento del sequenziamento, grazie al Progetto Genoma, sta mettendo a disposizione dei ricercatori tutte le proteine di un organismo. Queste conoscenze, assieme al progresso nella comprensione dei meccanismi di trasmissione dei segnali, chiariranno completamente lo schema operativo di una cellula o di un organismo, e quindi le cause delle malattie provocate da deficienze nella trasmissione di segnali, aprendo nuove possibilità di terapia.

Gli studi globali del trascrittoma e del proteoma aprono un nuovo mondo, basato sulla conoscenza approfondita delle funzioni del genoma. Da questo sta nascendo una nuova disciplina, che si può chiamare «biologia dei sistemi» che mira alla descrizione completa dei processi biologici e dei sistemi su cui si fondano. In questo indirizzo sia i geni sia le molecole che interagiscono con loro sono studiati a diversi livelli: le strutture formate da proteine o siRNA con geni o messaggeri, le interazioni delle proteine tra loro e con certi geni, e infine gli effetti dei geni attivi. Le connessioni tra i vari elementi definiscono poi circuiti di attività determinati dall'evoluzione.

Questo indirizzo richiede collaborazione tra biologi, matematici, fisici, chimici e informatici. Da questa cooperazione emergeranno programmi di computer che dalla lista dei geni attivi indicheranno quali siano i circuiti possibili, basandosi sull'informazione esistente nelle banche dati e sull'evoluzione dei vari geni e le varie molecole interagenti.

Geni e ambiente

Abbiamo visto in parecchie occasioni che i geni e l'ambiente collaborano nel determinare lo stato di un organismo. Per esempio, è chiaro che certe malattie sono dovute a un'interazione tra alterazioni genetiche e condizioni ambientali: un esempio tipico sono le malattie autoimmunitarie, in cui il sistema immunitario di un individuo agisce contro le cellule del proprio corpo, distruggendole. Ciò è in parte dovuto alla presenza di certi geni che causano la formazione di sostanze presenti sulla superficie delle cellule immunitarie, tendendo a dirigerle contro le proprie cellule; ma questa situazione è fortemente rinforzata da fattori ambientali, per esempio infezioni di certi virus che producono sulla superficie delle cellule infettate proteine simili a quelle di cellule del corpo stesso. Di conseguenza, quando il sistema immunitario dell'organismo riconosce le proteine prodotte dal virus come estranee, e sviluppa un'azione contro di esse, quest'azione si estende alle proteine simili presenti sulla superficie delle cellule normali. Questo è il meccanismo che porta alla distruzione delle cellule che producono insulina nel pancreas, determinando il diabete insulinodipendente. Un altro esempio è la reazione immunitaria contro il muscolo cardiaco quando c'è un'infezione da streptococco, a causa della somiglianza fra le proteine di superficie.

Effetto dell'ambiente sui geni

In questi casi i geni e l'ambiente collaborano, ma non c'è un'influenza dell'uno sull'altro. Diversi sono invece i casi in cui l'ambiente esercita un'azione sui geni, causando cambiamenti importanti sul tipo di geni attivi in un organismo. In alcuni casi quest'azione è ovvia: per esempio, in una coltura di batteri esposti a un antibiotico molte delle cellule vengono uccise, ma se ci sono cellule resistenti all'antibiotico, queste possono crescere e in poco tempo sostituire l'intera coltura. Ci sono però altri casi in cui l'azione dell'ambiente è molto più sofisticata; e questi presentano la

possibilità di un'influenza indiretta ma importante sull'evoluzione degli organismi.

L'idea che l'ambiente possa provocare dei cambiamenti genetici in un organismo sembra strana, perché si pensa ai geni come elementi immutabili. Però essi in realtà non lo sono, perché vanno incontro continuamente, sebbene a ritmo moderato, a modificazioni della sequenza, generando «mutazioni» che avvengono spontaneamente oppure sotto l'azione di agenti estranei; e le mutazioni alterano la funzione del gene. L'ambiente può poi modificare i geni selezionando individui con tali modificazioni spontanee. Un esempio è fornito dalla malattia nota come anemia falciforme, che è dovuta ad alterazioni del gene responsabile della costruzione di emoglobina, una molecola presente nei globuli rossi del sangue e che ha il compito di trasportare l'ossigeno dal polmone alle altre parti del corpo; ne risulta una grave anemia. La frequenza di individui che non sono ammalati, ma che hanno una copia alterata del gene e l'altra normale, è più alta in paesi in cui è endemica la malaria. La connessione è che il parassita della malaria si riproduce con difficoltà nei globuli rossi contenenti l'emoglobina alterata, anche se è mescolata con emoglobina normale, come avviene in questi individui. Il gene alterato ha quindi un'azione favorevole, proteggendo l'individuo contro la malaria, e perciò con il tempo diventa sempre più frequente nella popolazione esposta.

Un altro esempio simile è una forma ereditaria di diabete resistente all'insulina, che è frequente tra gli indiani nativi del Nord America. Negli individui colpiti c'è un accumulo di glucosio (uno zucchero) nel sangue; la malattia è dovuta a un'alterazione nel gene che causa la formazione dell'insulina, che normalmente controlla la quantità di glucosio, o di altri geni che controllano l'utilizzazione del glucosio. L'alta frequenza tra gli indiani è attribuita alla dieta povera usata per molti secoli, basata sull'uso di carne e perciò carente di zuccheri, per cui il livello di glucosio nel sangue era permanentemente basso. Questa riduzione ha favorito la sopravvivenza degli individui con mutazioni che causano una diminuzione del consumo del glucosio da parte delle cellule; normalmente queste persone sarebbero state fortemente handicappate perché la concentrazione del glucosio nel sangue sarebbe aumentata oltre i limiti normali. Invece, nelle condizioni in cui questi individui vivevano, era utile perché permetteva di mantenere la concentrazione del glucosio a un livello sufficiente per andare incontro a un'improvvisa domanda durante lo sforzo muscolare. In seguito, invece, la dieta si è arricchita, causando un aumento

eccessivo della concentrazione del glucosio nel sangue, e così provocando i sintomi del diabete.

Ambiente ed evoluzione

L'influenza dell'ambiente sui geni può avvantaggiarsi della caratteristica più importante del genoma, la sua complessità; ciò può essere avvenuto durante l'evoluzione, nella quale l'ambiente deve avere avuto un ruolo importante. Uno dei problemi dell'evoluzione è che l'enorme variabilità di specie diverse non si può facilmente spiegare con una successione di mutazioni. Sappiamo che cambiamenti dell'ambiente, anche piccoli, producono modificazioni dell'attività di molti geni, come è stato dimostrato con l'uso dei *microarrays;* questi effetti possono avere avuto conseguenze importanti durante l'evoluzione. Pensiamo a un cambiamento ambientale che ha effetto su molti geni, aumentando o diminuendo la loro attività, senza causare modificazioni delle sequenze. Gli effetti non sono uguali in tutti gli individui, ma dipendono dallo stato del loro genoma. Individui con un'organizzazione adatta del genoma sopravvivono, mentre quelli che non reagiscono in modo utile progressivamente scompaiono. Alla fine la specie rimane costituita solo dagli individui adattabili, e può persistere in questo stato per lungo tempo, senza alterazioni della sequenza dei geni. Con il tempo vi avvengono mutazioni spontanee; quelle compatibili con il nuovo stato del genoma e con l'ambiente persistono, quelle incompatibili vengono eliminate. Così, progressivamente, quel che era un cambiamento funzionale, cioè dell'attività dei geni, diventa un cambiamento strutturale, cioè delle sequenze; e il genoma che ne risulta è adattato al nuovo ambiente. In questo modo la risposta globale del genoma può facilitare la transizione da un suo stato all'altro, provvedendo a una copertura temporanea immediata, che poi permette lo stabilirsi di alterazioni geniche utili, che non possono avvenire rapidamente.

Un tale percorso può dare l'impressione che variazioni dell'ambiente siano l'unica causa delle mutazioni che poi persistono; questa idea, formulata nel passato, è stata però successivamente respinta per mancanza di prove dirette, portando a optare per la combinazione di un adattamento funzionale con la produzione spontanea di mutazioni. A tale proposito un'osservazione importante è stata fatta su batteri sottoposti a un regime nutritivo inadeguato: in questo caso si è osservata l'insorgenza di

mutazioni che adattano i batteri a quel regime. Qui il meccanismo è diverso da quello proposto più sopra, poiché le condizioni sfavorevoli causano danni nel DNA, che suscitano l'attivazione di uno speciale meccanismo di riparazione dei danni stessi, accompagnato da un aumento della frequenza delle mutazioni. Alcune di queste, a caso, rendono le cellule più resistenti all'azione negativa dell'ambiente, e quindi persistono; altre che non hanno questa proprietà, scompaiono. La frequenza di tali mutazioni osservate in una coltura esposta al regime sfavorevole è molto più alta di quella riscontrabile in una coltura in condizioni normali, e ciò farebbe pensare che l'ambiente induca direttamente le mutazioni; mentre invece causa l'attivazione di un sistema che attiva le mutazioni, permettendo poi la selezione di quelle più utili.

Sia in questo caso sia in quello prospettato come meccanismo dell'evoluzione, l'effetto diretto dell'ambiente è quello di provocare una risposta funzionale, che poi viene progressivamente trasformata in una risposta strutturale, cioè nella modificazione di geni che favoriscono la resistenza alle nuove condizioni ambientali. Questo concetto rende più facile capire come profondi cambiamenti di geni siano avvenuti durante l'evoluzione. Infatti, se i cambiamenti fossero basati su mutazioni che avvengono una per volta, la loro produzione sullo sfondo di un genoma che era già stato selezionato per il suo adattamento all'ambiente non potrebbe essere favorevole; perciò sarebbe difficile, e forse impossibile, ottenere un accumulo di mutazioni adeguato per i cambiamenti osservati.

I geni e l'apprendimento

Tutti conosciamo il processo di apprendimento che continua tutta la vita, dal momento in cui si nasce (e forse anche prima, nell'utero della madre) fino alla morte (sebbene nella vecchiaia si dimentichino molte cose). Imparare significa acquistare nuova informazione; un aspetto cruciale dell'apprendimento è l'adattamento dell'individuo a un ambiente che cambia, a una cultura che cambia. L'apprendimento è considerato una funzione del cervello, che è la sede della memoria, però ci sono altre forme di memoria che non coinvolgono il cervello.

Il ruolo dei geni nella memoria e nell'apprendimento non è chiaro, ma è connesso con il loro ruolo nel determinare la personalità. È chiaro che ciò che si impara proviene dall'ambiente, ma è anche dimostrato, per esempio

dagli studi dei gemelli identici, che i geni hanno un'influenza non trascurabile in tale processo. Si può infatti pensare che i geni funzionino come un filtro selettivo nell'apprendimento, agendo sulla costituzione e la funzione del cervello, permettendo così a certi tipi di esperienze di essere immagazzinati e di avere un impatto sulla personalità maggiore di altri.

Mentre il ruolo dei geni su questo tipo di apprendimento non è ancora ben noto, il loro ruolo su un'altra forma di apprendimento, quello immunologico, è molto meglio definito. La parola «immunologia» deriva dal concetto che un individuo, una volta infettato da un agente come un batterio o un virus, quando si rimette dalla malattia ne risulta spesso immune: anche se esposto di nuovo allo stesso agente, non si ammalerà più. Perciò l'individuo impara, attraverso l'esposizione all'agente infettivo, a resistervi. L'immunologia è la parte della biologia che studia i meccanismi di tale apprendimento al livello delle cellule, delle loro molecole e dei loro geni. L'insieme di queste cellule, molecole e geni costituisce il «sistema immunitario», a cui abbiamo già accennato, che ha a che fare con l'immunità a infezioni e anche con molte altre situazioni: infatti esso risponde a ogni tipo di molecole estranee che entrano nel corpo, cosicché controlla il rigetto degli organi trapiantati da un altro individuo, nonché l'allergia o l'asma in risposta a sostanze estranee.

Lo studio dell'immunità negli animali e in pazienti umani ha dimostrato che essa funziona attraverso due tipi di risposta. Nel primo tipo l'organismo, dopo la prima esposizione a una sostanza estranea, sviluppa «anticorpi» contro quella sostanza; gli anticorpi sono proteine che possono legarsi a sostanze estranee con enorme selettività. Nel secondo tipo cellule speciali (le *killer cells* o «cellule killer») attaccano e uccidono cellule estranee, per esempio quelle di un organo trapiantato. La differenza tra queste due risposte è stata per molti anni fondamentale nello studio dell'immunologia; ma oggi è chiaro che esse hanno molti elementi in comune, perché gli anticorpi sono prodotti da cellule che sono molto simili alle cellule killer. Entrambe hanno infatti sulla loro superficie molecole destinate al riconoscimento di elementi estranei, ed entrambe rispondono producendo sostanze difensive, una gli anticorpi, l'altra le proteine che uccidono le cellule estranee.

Proprietà comuni a tutti e due i tipi di cellule sono l'estrema selettività e il grande spettro di sostanze a cui reagiscono: quasi ogni sostanza estranea all'organismo, di origine naturale o artificiale, può suscitare una risposta immunitaria. Ma com'è possibile che le cellule producano questa enorme

varietà di risposte? Consideriamo gli anticorpi. Sappiamo che ogni molecola di questo tipo è costituita da due proteine codificate da due geni; se ci fosse un gene per ogni varietà di proteina, il loro numero dovrebbe essere altissimo, probabilmente più grande del numero di tutti i geni presenti nei genomi dell'uomo e degli animali. Questo problema costituì una grande sfida per i ricercatori, e fu finalmente risolto solo dopo molti anni di lavoro.

La risposta è veramente stupefacente: non ci sono geni sufficienti per le varietà di anticorpi, eppure le due proteine che costituiscono un anticorpo sono formate mettendo insieme segmenti di geni preesistenti in ogni possibile configurazione. Immaginiamo che ogni proteina sia fatta di tre parti: A, B e C, e che ci siano 100 tipi della parte B, da B1 a B100; ogni parte è formata da un minigene specifico. Durante l'operazione del sistema immunitario le cellule che hanno il compito di produrre gli anticorpi mettono insieme una copia di A, una di B, e una di C, formando un nuovo gene. Questo gene non è presente prima dello sviluppo del sistema immunitario e non è ereditato; solo i minigeni per le varie parti sono ereditati. Le varie parti del minigene B sono scelte a caso, in modo che si producono 100 proteine differenti. Per fare un anticorpo, sono usate due proteine di questo tipo, per cui il numero totale di combinazioni possibili delle proteine di riconoscimento è di 10.000, numero aumentato ulteriormente da altri meccanismi che introducono cambiamenti durante l'assemblaggio del gene completo. Ogni cellula ha un anticorpo e può quindi riconoscere una sostanza estranea; cellule diverse hanno anticorpi diversi, e tutte insieme spiegano il grande spettro delle risposte dell'organismo. Un metodo simile viene usato dalle *killer cells.*

Questo meccanismo spiega come si possano riconoscere tante sostanze estranee, ma come viene prodotta l'immunità? Come fa il corpo a imparare a concentrarsi su certe molecole di riconoscimento sulla base dell'esperienza? Come impara il sistema immunologico? Lo fa selezionando le cellule adatte. C'è un metodo per cui quando una cellula del sistema riconosce il suo obbiettivo specifico attraverso il suo anticorpo, comincia a moltiplicarsi e produce un gran numero di cellule uguali. Lo stesso fanno le *killer cells.* Questa reazione è un po' lenta, e raggiunge lo sviluppo massimo in circa due settimane. Nel caso delle *killer cells,* le cellule così prodotte circolano attraverso il corpo, si legano alle molecole che sono il loro obbiettivo dovunque esse siano (per esempio sulla superficie di virus, batteri, o altre cellule), e ne causano l'eliminazione.

Una volta che le molecole bersaglio sono state eliminate, le cellule cambiano caratteristiche e diventano *memory cells* o «cellule della memoria». Queste sopravvivono a lungo, e, se la stessa molecola bersaglio ricompare nel corpo, esse ritornano immediatamente al loro compito originario, eliminandola rapidamente. Questo costituisce l'immunità.

Perciò, il metodo per cui il sistema immunitario impara e ricorda è un processo di selezione: l'organismo all'inizio ha molte possibilità, cioè molti tipi di cellule con diverse specificità, e seleziona quella adatta per ogni occasione, producendo una vasta popolazione di cellule dalla cellula selezionata, e poi mantenendo quella popolazione pronta per un ritorno della stessa occasione.

Se consideriamo il cervello, vi troviamo un disegno simile. Pensiamo al cervello come formato da un gran numero di circuiti elettrici che interagiscono tra loro. Quando noi vediamo, sentiamo o tocchiamo qualche cosa, un certo circuito viene stimolato. Se ciò accade molto spesso, il circuito diventa più suscettibile all'attivazione da stimoli successivi, cioè ricorda. Questo, di nuovo, è un metodo di selezione perché rinforza l'attività di un circuito tra i tanti esistenti nel cervello. Il ruolo dei geni è di costruire il macchinario che renda possibile tale selezione. Un esempio di sistema di selezione è quello del sistema olfattivo, che in tutti gli animali è usato per riconoscere e distinguere una grande varietà di odori. Ogni organismo ha dei geni che determinano la formazione di «ricettori olfattivi»; ogni cellula nervosa olfattiva esprime uno dei geni, e contiene un solo ricettore, localizzato nell'estremità della cellula esposta all'ambiente esterno. Ogni ricettore riconosce un gruppo di sostanze odorifiche; ricettori diversi riconoscono gruppi diversi di queste sostanze. Perciò quando una sostanza odorosa raggiunge la mucosa, per esempio del naso, dove ci sono le estremità di tutte le cellule olfattive con i loro ricettori, quelli che riconoscono la sostanza vengono stimolati, e gli stimoli sono trasmessi alle cellule nervose, e da lì al cervello. Una sostanza può interagire con diversi ricettori, perlopiù causando in ciascuno di essi un segnale di intensità diversa. Nel cervello l'immagine dell'odore è determinata dall'insieme dei segnali provenienti dai vari ricettori dell'insieme di cellule nervose olfattive che sono stimolate. Nell'uomo ci sono circa 350 ricettori diversi; nei topi, che sono più sensibili agli odori, più di 1000; nel moscerino della frutta circa 60. I mammiferi perciò sono capaci di distinguere molte differenze di odori, basate sulle differenze dei gruppi di cellule olfattive che attivano.

Il cervello può imparare anche in un altro modo. Alla nascita ci sono molti circuiti, ma essi non sono permanenti. Quando sensazioni di vario tipo raggiungono il cervello, i circuiti che vengono usati di più vengono aumentati e rinforzati, quelli che non sono usati scompaiono. Di nuovo vediamo una selezione prodotta dall'ambiente: i geni costruiscono una varietà di circuiti (le varie possibilità), e ciò che è utile viene poi selezionato.

Perciò in tutti questi sistemi i geni hanno un ruolo essenziale nell'apprendimento perché mettono a disposizione molte possibilità di scelta. L'ambiente, sotto varie forme, può poi selezionare le possibilità più appropriate. Perciò la conclusione è che nell'apprendimento sia i geni sia l'ambiente sono essenziali.

I geni e l'invecchiamento

Noi sappiamo che ogni vita ha un termine; la sua durata può variare enormemente, dalla diecina di minuti di un batterio ai molti anni degli esseri umani, ai millenni di certe piante. Per esempio, il salmone dell'Oceano Pacifico, dopo aver fatto un lungo percorso controcorrente per raggiungere il sito della sua luna di miele, muore immediatamente dopo aver messo in azione la sua capacità riproduttiva; e in certi animali l'invecchiamento non è essenzialmente dimostrabile, come per esempio nelle tartarughe e nei pesci delle acque profonde dell'oceano; gli individui di queste specie hanno una vita molto lunga e muoiono di solito per cause accidentali. In ogni caso la durata è determinata dall'informazione contenuta nei geni, perché è grosso modo costante per tutti i membri di una stessa specie. E sappiamo anche che dopo un certo periodo tutti vanno incontro a cambiamenti progressivi, caratteristici della specie, che chiamiamo «invecchiamento».

Nell'uomo la vita media si è allungata considerevolmente, da una cinquantina d'anni a 80, durante il Novecento. Le ragioni sono chiare: c'è stato in quel periodo un notevole miglioramento delle condizioni di vita e con l'uso degli antibiotici sono state eliminate parecchie cause di morte prematura, come le infezioni batteriche. In aggiunta, nel determinare la durata della vita hanno un ruolo molto importante le condizioni ambientali, quali la nutrizione, le risorse di salute pubblica e l'organizzazione della società. Però l'invecchiamento non è causato soltanto da condizioni esterne che fanno terminare la vita, dato che avviene anche se queste vengono eliminate. Infatti si calcola che se tutte le cause esterne di morte fossero rimosse la vita umana si allungherebbe solo di pochi anni. Questa informazione supporta un ruolo dei geni nell'invecchiamento e infine nelle cause di morte.

Cause dell'invecchiamento

Biologicamente, il processo dell'invecchiamento ha caratteristiche diverse da quelle degli altri processi che costituiscono la vita: la cosa che colpisce di più è la grande e imprevedibile variabilità dei cambiamenti, in cui non c'è un ordine ben definito; questo è in forte contrasto con ciò che si osserva nelle altre fasi della vita, in cui l'organismo si sviluppa seguendo un piano ben definito. L'invecchiamento è fatto di una serie di avvenimenti casuali che non possono essere pianificati dai geni, ma su cui i geni possono esercitare un controllo generale, di fondo. Questo controllo è dimostrato chiaramente nell'uomo dall'esistenza di famiglie in cui tutti i membri hanno una vita più corta della media; e in alcuni casi si conosce un gene responsabile di questa differenza. Osservazioni simili sono state fatte sui topi, in cui esiste un gene le cui alterazioni producono sintomi di invecchiamento simili a quelli osservati negli esseri umani: in aggiunta a una vita più breve, questi animali sono meno attivi, non sono fertili, soffrono di osteoporosi e aterosclerosi. Molti loro organi presentano alterazioni tipiche dell'invecchiamento, che possono essere prevenute se si introduce in loro la proteina specificata dal gene sano corrispondente a quello alterato, cosa che dimostra chiaramente il ruolo del gene nei fenomeni descritti.

Geni che alterano la durata della vita, allungandola o accorciandola, sono stati individuati in parecchi organismi, specialmente in quelli più semplici che vengono studiati nei laboratori, quali il lievito, il moscerino della frutta e il vermetto. Però nell'uomo il contributo genetico all'invecchiamento è solo parziale: studi su gemelli identici, che hanno geni uguali, dimostrano che i geni contribuiscono solo per il 25% alla durata della vita.

Lo studio dei geni degli organismi più semplici getta molta luce sul meccanismo biologico dell'invecchiamento. I geni che possono prolungare di molto la durata della vita in questi animali dimostrano che tra gli elementi più direttamente responsabili dell'invecchiamento ci sono sostanze essenziali per l'esistenza stessa: uno è l'ossigeno che usiamo per respirare, l'altro è rappresentato dai cibi ingeriti per produrre l'energia necessaria a tutte le funzioni vitali.

Il pericolo dell'ossigeno non risulta direttamente da esso, ma da prodotti che si generano da esso e che sono essenziali per la sua funzione. Si tratta delle sostanze ossidanti prodotte nei mitocondri, quei corpuscoli presenti

nel citoplasma delle cellule, che derivano da antichi batteri e che hanno la funzione fondamentale di utilizzare l'ossigeno per produrre energia per le cellule. Queste sostanze ossidanti possono alterare le molecole più importanti dell'organismo, le proteine e il DNA, e altre ancora. L'organismo ha dei meccanismi di difesa contro queste sostanze, per esempio un gene noto come SoD (Superoxide dismutasi), famoso perché le sue alterazioni causano una malattia molto grave che porta a paralisi, la «sclerosi laterale amiotrofica». Questa difesa non elimina le sostanze ossidanti, ma ne limita solo la quantità, perché la quantità di queste sostanze nella cellula deriva dall'equilibrio tra produzione ed eliminazione. Tale quantità può quindi raggiungere livelli pericolosi per la cellula sia quando la produzione è aumentata, sia quando l'eliminazione è diminuita. Un'altra osservazione che rinforza il ruolo delle sostanze ossidanti nell'invecchiamento è quella di un roditore che produce poche sostanze ossidanti e ha una vita molto lunga. Questi animali hanno un'alta concentrazione di enzimi antiossidanti nelle loro cellule e le alterazioni di proteine dovute all'ossidazione sono molto scarse.

Ci si potrebbe chiedere perché la cellula mantenga un certo livello di queste sostanze ossidanti, malgrado la loro pericolosità. Il fatto è che esse hanno ruoli fisiologici, agendo come molecole-segnale; per esempio, la produzione di sostanze ossidanti in risposta all'azione di fattori di accrescimento contribuisce a regolare la risposta proliferativa, mantenendola nei limiti utili per l'organismo.

Quando la concentrazione di sostanze ossidanti raggiunge alti livelli, si stabilisce nella cellula quel che viene chiamato lo «stress ossidativo», in cui il livello di danno per componenti cellulari essenziali diventa molto alto. La cellula risponde allora con modificazioni dell'attività di molti geni, generalmente deputati a diminuire la concentrazione delle sostanze ossidanti e a riparare i danni prodotti nelle proteine; ciò viene ottenuto producendo grandi quantità di proteine speciali che hanno la funzione di aiutare quelle danneggiate a riparare la loro struttura e, se questo fallisce, a distruggerle, recuperando i costituenti per costruire proteine nuove. Infatti, quando lo stress ossidativo è molto intenso entrano in azione meccanismi di autodistruzione delle cellule. Tali meccanismi, che chiameremo «morte fisiologica», sono presenti in tutte le cellule, ma sono normalmente inattivi, venendo messi in funzione quando c'è pericolo che i danni della cellula non siano più riparabili e possano essere pericolosi per tutto l'organismo.

Il ruolo dei geni

Parecchi geni controllano la durata della vita, in aggiunta a quelli già indicati. In tutte le specie esaminate (vermetto, moscerino, topo) i geni responsabili per la produzione dell'ormone della crescita e di ormoni simili all'insulina hanno un ruolo importante: una diminuzione della loro attività aumenta la lunghezza della vita e diminuisce i sintomi dell'invecchiamento. Una situazione simile si osserva nelle varie razze di cani, dove quelle più piccole hanno una minore attività degli ormoni e vivono più a lungo.

Il ruolo importante delle sostanze ossidanti nel normale invecchiamento è dimostrato da studi sull'attività dei geni durante questo periodo, sia nel moscerino della frutta sia nei topi, usando il metodo dei *microarrays*. Nel moscerino si sono studiati circa 8000 geni (più della metà di tutti i geni del moscerino) in individui di varie età. Si sono osservati cambiamenti in molti geni, sia come aumento sia come diminuzione di attività. Di questi geni, circa un terzo va incontro a cambiamenti simili a quelli osservati durante uno stress ossidativo ottenuto artificialmente esponendo i moscerini all'insetticida paraquat; questo risultato dimostra che lo stress ha un ruolo importante nell'invecchiamento. Però non tutti i geni si comportano in questo modo: il 60% di quelli che cambiano attività durante l'invecchiamento non sono influenzati dallo stress ossidativo. Questo conferma l'idea che, sebbene lo stress abbia una funzione importante nell'invecchiamento, non ne è il solo fattore. Lo stesso studio è stato fatto nei topi osservando il comportamento di circa 6000 geni (soltanto un quinto del totale); esso ha dimostrato un notevole cambiamento dell'attività dei geni durante l'invecchiamento, ma con una distribuzione diversa che nel moscerino: sembra che in questa specie lo stress ossidativo abbia meno importanza. La differenza potrebbe essere dovuta in parte al fatto che molti dei geni del topo non sono stati studiati.

Il metodo dei *microarrays* è stato applicato anche alla determinazione dello stato di attività dei geni in cervelli di topi anziani, per cercare di scoprire i fattori che portano al decadimento dell'attività cerebrale in età avanzata. I risultati sono interessanti: c'è un aumento di attività di geni che partecipano alla risposta allo stress ossidativo e di geni coinvolti nel processo di «infiammazione», cioè di risposte a un'irritazione causata da

sostanze dannose, tra cui quelle presenti nello stress ossidativo. In contrasto, è diminuita l'attività di geni necessari per lo sviluppo del cervello e per l'accrescimento cellulare, che raggiungono un limite nella tarda età; e ridotta è anche l'attività dei geni che permettono una risposta a cambiamenti funzionali delle cellule nervose, che è la base dell'apprendimento. C'è diminuzione dell'attività dei geni che causano la formazione di nuove proteine, e questo può contribuire alla perdita di memoria in tarda età, perché è probabile che lo stabilirsi di nuove memorie richieda la sintesi di nuove proteine. Questi risultati confermano in linea generale ciò che si sa dei meccanismi dell'invecchiamento, ma aprono anche un'interessante finestra sui meccanismi attivi nel cervello, la cui conoscenza potrà aumentare le possibilità di ricerca e, infine, di mezzi per ridurre i sintomi.

Risultati simili sono stati ottenuti esaminando l'attività di geni espressi nell'uomo nella parte frontale della corteccia cerebrale estratta da individui morti tra i 40 e i 70 anni. I dati confermano il concetto che l'invecchiamento del cervello è dovuto allo stress ossidativo, e che è rinforzato da diminuzioni dell'attività mitocondriale e di geni necessari per il riparo del DNA.

Il ruolo dei geni nell'invecchiamento dell'uomo è illustrato anche da due malattie che portano a un invecchiamento precoce, a partire dai 25 anni: la progeria e la sindrome di Werner. I sintomi delle due malattie sono simili: ritardo della crescita, perdita del grasso sottocutaneo, perdita dei capelli, osteoporosi, aterosclerosi. Questi pazienti appaiono vecchi in giovane età, e poi muoiono verso i 45 anni, per lo più per malattie del cuore o delle arterie.

Il gene alterano nella progenia controlla la formazione della membrana che separa il nucleo dal resto della cellula, con il risultato che il passaggio di RNA fuori del nucleo, e di proteine entro il nucleo, è ostacolato. Ne risulta considerevole disorganizzazione dei segnali che controllano l'attività dei geni e dello stato del DNA. Nella sindrome di Werner il gene alterato ha una funzione importante nella duplicazione del DNA e nella riparazione dei suoi danni. In entrambe le malattie l'elemento principale, causa della malattia, è l'alterazione delle funzioni del DNA, che pur non essendo abolite, sono gravemente compromesse. Perturbazioni simili, ma di grado molto ridotto, partecipano al normale invecchiamento. Parecchi geni, sia nucleari sia mitocondriali, collaborano alla produzione di queste perturbazioni, e ai diversi sintomi che caratterizzano lo stato dell'anziano.

Cibo e invecchiamento

Un altro fattore a cui si dà notevole importanza nei meccanismi dell'invecchiamento è la quantità di cibo consumata. I roditori di laboratorio mantenuti con una dieta molto ristretta hanno una vita più lunga rispetto ad animali simili mantenuti con una dieta normale, e sono più resistenti a stress di vario tipo. La situazione è paragonabile all'ibernazione, cioè al letargo degli orsi durante la stagione invernale, che ne aumenta la vita. Anche in animali vicini all'uomo, come i primati, la limitazione di cibo allunga la vita. Nell'uomo non ci sono dati sicuri perché non si trovano individui che accettino di passare tutta la vita affamati.

Paragonabili al ruolo della diminuzione delle calorie sono alcuni mutanti osservati in organismi semplici. Il caso più notevole è quello del vermetto: se allo stadio di larva è mantenuto in condizioni di superaffollamento e di scarsezza di cibo, entra in uno stato latente, chiamato *dauer* (dal tedesco «durata, stabilità»), in cui non si nutre e non si riproduce. In queste condizioni le larve possono sopravvivere per almeno 60 giorni; quando ne escono riprendono le loro attività e il resto della vita è normale. Nello stato di *dauer* le larve sono resistenti alle sostanze ossidanti, come anche ad altri tipi di stress (temperatura, radiazioni). Lo stato *dauer* è controllato da parecchi geni, tra cui quelli per gli ormoni indicati più sopra, le cui alterazioni aumentano la durata della vita.

Anche nel moscerino della frutta l'alterazione di uno di questi geni quasi raddoppia la durata della vita. Il prodotto di questo gene sembra regolare l'utilizzazione dei cibi, per cui quando il gene non funziona regolarmente, il moscerino è come se fosse in dieta dimagrante. Anche nel lievito esiste un gene con proprietà simili, dimostrando che in molti, forse in tutti gli esseri viventi, ci sono geni responsabili della lunghezza della vita la cui attività è connessa con il consumo calorico.

Un meccanismo per cui una riduzione alimentare aumenta la durata della vita è chiarificato da osservazioni nei topi: l'allungamento della vita conseguente a una diminuzione delle calorie consumate è associato a una diminuzione di sostanze ossidanti nei mitocondri, perciò si producono meno danni alle proteine, al DNA e ad altre molecole. Però in animali così trattati ci sono cambiamenti anche nell'attività di molti geni, per cui il meccanismo di longevità è probabilmente complesso. Che ci sia ancora

molto da imparare in questo campo è dimostrato dal fatto che non c'è una buona spiegazione dell'enorme differenza della lunghezza della vita in insetti in cui c'è una differenziazione tra regina e lavoratrici, come nelle api. La regina vive anni, mentre le lavoratrici solo poche settimane. Non si sa se la differenza sia dovuta al cibo o a fattori ormonali.

Ci si può chiedere se le conoscenze sui fattori che controllano la durata della vita possono essere usate per stabilire condizioni che permettano un allungamento della vita umana. Si sono fatti degli studi per determinare se sostanze che difendono l'organismo dall'azione degli ossidanti possono agire in tal senso, ma i risultati non sono stati soddisfacenti: non c'è stato un effetto evidente. Forse una limitazione del cibo avrebbe effetti più significativi. Il risultato comunque conferma il fatto che le nostre conoscenze sono parziali. Non c'è dubbio che i geni possono esercitare un controllo sulla lunghezza della vita, ma è probabile che quelli coinvolti siano numerosi e che agiscano in complessi; a questo si aggiunga la molteplicità delle influenze ambientali, molte delle quali sono quasi certamente ancora sconosciute.

Geni e umanità

Che cosa siamo? Geni e umanità

I veri progressi nella storia dell'umanità sono quelli che aprono nuovi orizzonti, sia reali (geografici), come la scoperta dell'America o l'esplorazione dello spazio, sia virtuali (intellettuali). Oggi l'umanità fa un nuovo lungo passo, un progresso reale e intellettuale che apre nuovi orizzonti, non fuori di noi, ma dentro di noi: la conoscenza del nostro genoma. È un orizzonte ampio perché nel corpo umano ci sono circa 40.000 geni; in aggiunta, i geni di tutti gli individui - eccezion fatta per i gemelli identici - sono un po' diversi. Ci sono perciò miliardi di genomi umani sulla Terra, che differiscono in qualche dettaglio. I loro geni possono dirci che cosa siamo?

I geni debbono essere considerati come i piloti della nostra vita perché determinano tutte le nostre caratteristiche; ma non lavorano da soli, bensì collaborano con l'ambiente, per esempio ciò che mangiamo e beviamo o le influenze della gente attorno a noi. Agiscono perciò come il pilota di un aereo, che sceglie la rotta a seconda del tempo che incontra. La conoscenza dei geni e delle loro interazioni con l'ambiente dovrebbe fornire una risposta alla nostra domanda.

Però nella mente del pubblico la parola «gene» suscita reazioni varie. Per molti evoca l'immagine di qualche cosa di indefinibile che appartiene al corpo umano ed è molto importante, sebbene non sia chiaro perché. Sia le forze sia le debolezze dell'individuo vengono attribuite ai geni, come è evidente da certe espressioni tipo: «È genetico», oppure «I geni me l'hanno fatto fare», che dimostrano un'attitudine fatalistica, l'arrendersi all'inevitabile, come si dice: quel che sarà sarà.

Generalmente tutti sanno che i geni sono parte dell'eredità di ciascuna specie, che vengono trasmessi dai genitori ai figli e determinano le caratteristiche dell'individuo, altezza o bassezza, grassezza o magrezza, colore della pelle, forma del viso. È anche riconosciuto che i geni possono essere causa di malattie ereditarie.

È chiaro a tutti che i geni hanno una parte importante in questi avvenimenti, ma sul loro ruolo preciso esistono pareri diversi. Alcuni

arrivano a pensare che tutte le caratteristiche dell'individuo - intelligenza, creatività, persino la tendenza verso la violenza e la criminalità - siano dovute ai geni. C'è gente con una fede enorme nella scienza che spera nella possibilità di manipolare geni con diversi obbiettivi: sviluppare una razza superiore dotata di poteri straordinari; cambiare le caratteristiche degli individui e persino cambiare un animale in un altro, per esempio una scimmia in un essere umano. Altri si preoccupano di queste possibilità ipotetiche, e hanno dubbi sui poteri della scienza.

Le idee sui geni che circolano nel pubblico sono di solito basate su un'informazione approssimativa o anche su disinformazione ottenuta attraverso la stampa o la televisione. I media considerano eccitanti le notizie sui geni e tendono a drammatizzarle, a renderle sensazionali. La disinformazione combinata con una certa quantità di misticismo crea una confusione terribile. L'idea del gene tende a sovrapporsi a idee religiose: i geni, essendo caratteristici della specie e immutabili attraverso le generazioni, potrebbero essere l'espressione della divinità entro di noi.

Perciò ci sono vari punti di vista popolari - sui nostri geni e sul significato che hanno per noi - che non sempre coincidono con le conoscenze acquisite. Per ottenere tali conoscenze, il biologo segue una visione più obbiettiva e più generalmente accettabile dei fatti a sua disposizione; si fa precise domande e vuole risposte concrete, basate sui fatti. In primo luogo si chiede: dove sono i geni, come sono fatti, qual è il loro compito? Queste domande sono state soddisfatte, come abbiamo visto nelle pagine precedenti. Poi vuol anche sapere perché i geni talvolta causano malattie, e cosa possiamo fare a questo riguardo. Su questi ultimi punti c'è solo qualche risposta. Infine, sulla base dei risultati ottenuti, il biologo pone nuove domande, per esempio che relazione c'è tra i geni, l'individuo e la specie, come i geni determinano le caratteristiche dell'individuo, che vantaggi derivano all'umanità dalla conoscenza dei geni.

Gli effetti dei geni

Per quello che riguarda l'azione dei geni, non c'è dubbio che essi controllano le caratteristiche corporee, come si può riconoscere sia negli animali sia nelle piante. È facile convincersi del loro ruolo guardando stipiti di topo ottenuti da incroci tra fratelli e sorelle per molte generazioni:

in ogni stipite tutti i topi sono identici in tutte le caratteristiche osservabili; in questo sono diversi dai topi comuni, che hanno una varietà di caratteristiche. E topi di stipiti diversi hanno altre caratteristiche. Un'altra dimostrazione evidente del ruolo dei geni è data da animali o piante «transgeniche», che hanno cioè ricevuto il trapianto di un gene estraneo, e di conseguenza hanno caratteristiche alterate. Il primo risultato impressionante fu ottenuto trapiantando un gene di ratto che controlla la produzione dell'ormone della crescita, in un topo: il topo transgenico diventò quasi il doppio più grosso dei topi normali. In un altro esperimento dello stesso tipo si poté dimostrare che certi geni controllano la velocità di accrescimento delle cellule: quando si introdusse uno di essi nel topo, le sue cellule cominciarono a moltiplicarsi più rapidamente, generando grosse masse in cui più tardi si svilupparono tumori. Effetti opposti si ottengono eliminando un gene dai topi: molti animali muoiono nell'utero della madre, altri sopravvivono, ma spesso hanno deficienze notevoli negli organi o tessuti in cui il gene eliminato ha un ruolo importante. Alcuni animali sembrano non soffrire affatto per la mancanza del gene, e questo oggi si può attribuire alla globalità delle funzioni dei geni, per cui la funzione di quello mancante può essere sostituita da quella di altri. E molti geni sono attivi solo in condizioni speciali, come stress o presenza di sostanze tossiche.

Alcuni degli effetti dei geni sugli esseri umani sono molto evidenti: per esempio l'altezza, il colore dei capelli o il tono della voce. Il modo in cui queste differenze sono determinate è nello stesso tempo semplice e complicato: per esempio, è chiaro che l'altezza di un individuo è determinata da molti geni che collaborano, sommando i loro effetti; ma il ruolo di ciascun gene non si può riconoscere facilmente. Il controllo del tono della voce è più semplice; dipende da delle paia di geni che possono essere in due stati: A o B. In individui in cui i due geni dello stesso paio sono in stati diversi (AB), il tono è nella metà del suo registro (mezzosoprano nelle donne, baritono negli uomini). Quando i geni sono nello stesso stato (AA o BB), la voce sarà a uno degli estremi del registro: a un estremo la persona sarà o un soprano o un tenore, all'altro sarà un contralto o un basso.

Un altro effetto interessante dei geni si osserva in persone che mangiano asparagi: qualche tempo dopo averli mangiati, molti producono un'orina con un odore caratteristico, mentre, come risultato di una differenza genetica, l'orina di altri non ha alcun odore.

Una parte del corpo umano fortemente influenzata dai geni è la faccia: le sue caratteristiche sono determinate da più di 50 geni che controllano lo sviluppo di 5 centri di ossificazione, e anche dallo sviluppo del cervello. La combinazione di tutti questi fattori, in tutti i modi possibili, dà luogo all'enorme numero di fisionomie facciali che caratterizzano la specie umana. Perciò la faccia è il ritratto più diretto che si possa vedere del genoma; e il cervello umano ha la capacità di discriminare tra questo enorme numero di varianti, decifrando con uno sguardo una parte importante del genoma, una cosa che nessun computer può fare con uguale facilità e rapidità.

Geni e personalità

Mentre il ruolo dei geni nel determinare le caratteristiche fisiche è facilmente dimostrabile, il loro ruolo nello sviluppo della personalità e del comportamento non è altrettanto chiaro; questo è stato oggetto di grande interesse per molto tempo. Al principio del Novecento i geni venivano considerati capaci di determinare la personalità umana, e si osservò un'associazione tra caratteristiche fisiche e comportamento. Si riconosceva una relazione tra altezza e pigrizia, magrezza e parlare a voce alta eccetera. Più tardi s'impose una diversa scuola di pensiero, e il ruolo dei geni in queste caratteristiche fu minimizzato; allora lo sviluppo della personalità fu attribuito esclusivamente alle condizioni in cui l'organismo si sviluppa, cioè l'ambiente, nel suo significato più vasto.

Nessuna di queste due interpretazioni contrastanti aveva una base scientifica; esse erano, fondamentalmente, di natura filosofica. Più recentemente è risorto un certo interesse nello studio scientifico di queste correlazioni. Questi sforzi hanno dato risultati misti: alcune osservazioni importanti e alcuni errori, perché i mezzi usati erano adatti per lo studio di caratteristiche dipendenti da un solo gene, mentre è ora chiaro che il comportamento dipende da molti geni. Un'ulteriore complicazione è che il comportamento non è una quantità misurabile, ma deve essere valutato con metodi indiretti che possono essere soggettivi e perciò di dubbio valore.

Un esempio degli errori del passato è la conclusione che uomini con una copia in più del cromosoma Y (che è presente solo nei maschi) sono predisposti alla criminalità; questo perché la loro proporzione nelle prigioni era più alta che nell'intera popolazione. La predisposizione alla criminalità era perciò considerata come una specie di «supermachismo»

genetico, perché il cromosoma Y determina le caratteristiche sessuali dei maschi; essi sarebbero dunque stati dei supermaschi. Più tardi si capì che l'estrapolazione non aveva basi quando si trovò che individui con un eccesso di cromosomi di altri tipi non sono resi più forti dal cromosoma extra ma, al contrario, ne sono danneggiati. Questo perché l'eccesso di un cromosoma altera la bilancia nell'azione di molti geni che è essenziale per il normale funzionamento dell'organismo. Così l'ipotesi sul ruolo del cromosoma Y fu abbandonata. È probabile che maschi con un cromosoma Y extra finiscano in prigione più facilmente di altri perché sono facilmente riconoscibili, essendo molto alti e avendo caratteristiche facciali particolari che attraggono l'attenzione.

Data la difficoltà di concludere quali fattori, genetici o ambientali, determinano il comportamento negli esseri umani, si passò allo studio di animali per investigare il ruolo dei geni. Tale ruolo sembra evidente in alcuni casi, per esempio nei cani, in cui varie razze hanno personalità e attitudini differenti, che furono selezionate durante gli incroci e perciò sono certamente dovute ai geni. Altre differenze si riferiscono a caratteristiche specifiche: per esempio, nei mammiferi l'attitudine a essere predatori mostra una correlazione con la struttura di un centro nervoso del loro cervello che apparve molto precocemente durante l'evoluzione. Nelle specie predatrici tale centro contiene molte cellule, che sono anche più grandi di quelle degli altri animali. Questa osservazione fu spiegata nel modo seguente: il maggior numero di cellule permetterebbe lo sviluppo di piani più complicati per attaccare la preda, e la maggior dimensione delle cellule permetterebbe una risposta più rapida, perché i segnali si trasmettono più rapidamente in fibre nervose più spesse. Una correlazione simile si osserva anche negli uccelli in relazione al canto: quelli che nel cervello hanno un centro vocale più grande hanno un maggiore repertorio di canti.

Un'osservazione accidentale nei topi stabilì una connessione ancora più diretta tra i geni e il comportamento. Un topo fu reso transgenico con l'introduzione di un gene estraneo che, per puro accidente, andò a finire vicino a un gene importante, rendendolo inattivo. Il ruolo di quel gene era di diminuire la quantità di una sostanza (serotonina) che partecipa alla trasmissione di segnali in una parte del cervello; la sua inattivazione causò nel topo transgenico e nei suoi discendenti un aumento considerevole della quantità di serotonina presente nel cervello. In questi animali si osservarono importanti cambiamenti di comportamento. Essi erano molto

più aggressivi del normale: tendevano a mordere le persone che li toccavano, e lo stesso facevano con altri topi, mordendoli nei genitali e nella schiena; se un topo estraneo veniva introdotto in una gabbia di topi transgenici, esso veniva attaccato immediatamente, senza l'intenso studio che viene usato dai topi normali quando un estraneo viene immesso nella loro gabbia. Perciò un aumento della quantità di serotonina nel cervello causava in questi topi un comportamento molto aggressivo. È possibile che anche altri cambiamenti di geni connessi con la produzione di sostanze importanti per le funzioni cerebrali possano provocare delle modificazioni del comportamento, ma probabilmente in modi diversi.

Negli esseri umani le differenze di comportamento più direttamente correlate con i geni sono quelle connesse con la sessualità. I ruoli maschili e femminili sono ben definiti, e ogni individuo, dopo aver raggiunto la pubertà, si comporta conformemente al suo sesso negli incontri con il sesso opposto, senza bisogno di essere educato in tal senso. Le differenze sessuali sono influenzate da differenze ormonali, ma ciò non diminuisce il ruolo dei geni, perché gli ormoni sono prodotti su loro istruzioni. I geni sono solo informazione, e perciò non possono condizionare direttamente il comportamento, ma esercitano la loro influenza attraverso l'azione delle proteine di cui sono responsabili; e le proteine, a loro volta, agiscono attraverso interazioni complesse che coinvolgono altre sostanze, inclusi gli ormoni.

Queste osservazioni non lasciano dubbio che i geni possono influenzare il comportamento. Quel che rimane da stabilire è la loro importanza in paragone con quella dell'ambiente, su quali caratteristiche essi agiscono e con quale meccanismo. Il comportamento sessuale potrebbe essere considerato un caso speciale perché è un istinto, come quello del bebé che cerca la mammella della madre, sorride ai genitori o fa gesti complicati che nessuno gli ha insegnato. Gli istinti sembrano esser controllati dalla parte del cervello più antica in termini evolutivi, che è nota come «sistema limbico». In contrasto, le caratteristiche più direttamente influenzate dall'ambiente sarebbero da attribuire alla parte più recente del cervello, la «corteccia cerebrale», che negli esseri umani è la parte più grande di tutto il cervello ed è la base della razionalità. Infatti, è logico che gli istinti primitivi inizino le azioni, che sono poi controllate e completate in modo razionale in connessione con l'ambiente.

Un passo avanti nella conoscenza del ruolo dei geni nella determinazione del comportamento venne fatto attraverso lo studio dei

gemelli identici, ossia «monozigoti», che derivano dalla suddivisione in due di un embrione in stadio molto precoce, e perciò hanno esattamente gli stessi geni. Essi sono diversi dai gemelli fraterni («eterozigoti»), che derivano da embrioni distinti e sono perciò esattamente come fratelli e sorelle regolari, che hanno, in media, solo metà dei geni in comune. Quando due gemelli, di qualunque tipo, crescono nello stesso ambiente, le differenze tra di essi dipendono principalmente da differenze genetiche, che esistono solo nei gemelli fraterni; nelle stesse condizioni, i gemelli identici dovrebbero mostrare una maggiore uniformità. In contrasto, quando due gemelli identici crescono in famiglie differenti sin dalla più tenera età, le loro differenze di comportamento sono dovute principalmente alla differenza di ambiente.

Il comportamento dei gemelli è stato esaminato in molti studi usando migliaia di coppie, i cui membri erano cresciuti insieme o separatamente, considerando vari determinanti della personalità. Il punto debole di questi studi è che tali determinanti non si possono misurare accuratamente, ma solo in modo approssimativo. Però la concordanza dei risultati in studi diversi li fa ritenere validi, anche se imprecisi. In uno studio si usarono cinque determinanti della personalità: estroverso/introverso, nevrotico/stabile, responsabile/irresponsabile, gentile/aggressivo, ordinario/creativo. I paragoni mostrarono che le caratteristiche sono più simili tra i gemelli identici, e che se circa la metà della variabilità tra individui può essere attribuita a fattori genetici, l'altra metà deriva dall'ambiente. Risultati simili si ottennero usando altre variabili, come successo scolastico, abilità nel ragionare, abilità nell'espressione verbale o anche caratteristiche molto meno ben definite, come la tendenza dei bambini a farsi male, la teledipendenza, l'atteggiamento verso la famiglia, la propensione al divorzio. Alcuni risultati di quest'ultimo gruppo sono molto più deboli di quelli del primo, per la grande difficoltà di valutare il grado di espressione delle qualità esaminate. Tutte insieme queste osservazioni mostrano che geni e ambiente hanno ruoli equivalenti in molti aspetti del comportamento.

Questa conclusione non è sorprendente, perché l'evoluzione della specie umana nella direzione della socialità deve essere stata basata sul controllo genetico delle caratteristiche che rendono possibile il comportamento sociale. Nello stesso modo si capisce perché le alterazioni dei geni sono molto importanti nelle malattie del comportamento, che spesso sono dovute a un'esagerazione di tendenze normali, quando sfuggono

all'abituale controllo.

Un problema importante, per le ricadute sia mediche sia sociali, è conoscere i geni che controllano lo sviluppo della dipendenza da sostanze stupefacenti. Una componente genetica sembra esistere in circa una metà delle persone. La dipendenza è un processo cronico, perciò le alterazioni del cervello devono essere durature. Forse esse sono simili a quelle che producono una memoria di lunga durata. Nei roditori ci sono stipiti molto più inclini di altri a diventare dipendenti; però i geni responsabili non sono stati identificati, forse perché le differenze che producono non sono ben definite o i geni coinvolti sono parecchi. Quest'ultima possibilità è convalidata negli animali dall'uso dei *microarrays* per determinare l'attività di un gran numero di geni: essa dimostra che molti geni cambiano attività nelle varie fasi della dipendenza. Sembra che la loro azione si manifesti nella parte evolutivamente più vecchia del cervello, il sistema limbico, che regola la risposta dell'organismo a stimoli fisiologici, come fame, sete, sesso o interazioni sociali. Le sostanze stupefacenti potrebbero agire su questi circuiti naturali. Anche le «dipendenze naturali» (mangiar troppo, giocare d'azzardo, comprare in modo ossessivo e simili) sembra abbiano la stessa origine. Ora si spera che l'aumentata conoscenza del genoma aiuterà a identificare i geni coinvolti in tutte queste dipendenze. E anche l'uso di modelli animali ben sviluppati potrà aiutare a individuare i geni umani, cosa molto importante per poter sviluppare farmaci adatti a contrastare l'insediarsi della dipendenza.

Oggi il problema più pressante è l'identificazione dei geni responsabili del comportamento in generale, che sono probabilmente multipli. I risultati del sequenziamento del genoma umano, ora a disposizione, apriranno nuove strade che faciliteranno questo compito, usando i nuovi metodi a disposizione per studiare tutto il genoma. È probabile che parecchi geni partecipino a ciascuna caratteristica comportamentale, a causa della molteplicità di segnali che controllano le cellule nervose. Tra di essi ci sono sostanze chimiche di vario tipo, una delle quali è la serotonina di cui abbiamo già parlato; ognuna di queste sostanze può agire in parti diverse del cervello, con conseguenze diverse a seconda delle cellule nervose su cui agisce. Perciò è probabile che i geni importanti per la personalità siano di due tipi: alcuni determinano l'efficienza della trasmissione di segnali regolando le varie sostanze che li trasmettono, mentre altri geni modulano la risposta delle cellule a quelle stesse sostanze. Le diverse risposte di vari centri cerebrali in diversi individui possono essere generate all'uno o

all'altro livello, e ogni differenza può essere di numerosi tipi, creando una grande varietà di risposte. E i loro effetti possono addizionarsi o sottrarsi, perciò nell'insieme il numero delle risposte possibili è enorme.

I dati riportati dimostrano un importante ruolo dei geni nel comportamento degli esseri umani, e se ne può spiegare la ragione. Ora il problema è come l'ambiente possa esercitare quella forte influenza rivelata dallo studio dei gemelli. Probabilmente, ciò è dovuto alla presenza nel nostro cervello di strumenti per conservare l'esperienza accumulata; e questo ci porta al paragone con le due componenti del computer. In modo schematico, possiamo pensare alle due parti del cervello, quella antica e quella più recente, nel modo seguente: la parte antica, che contiene i programmi permanenti, è responsabile degli aspetti fondamentali del comportamento, quelli che sono uguali nei gemelli identici, mentre la parte più recente, che contiene i programmi variabili, è coinvolta nell'imparare, e accumula informazione proveniente dall'ambiente. Il comportamento totale è determinato dall'interazione tra gli elementi di informazione contenuti nelle due parti. Le complesse interazioni tra i geni coinvolti nella determinazione della personalità, assieme agli effetti complessi dell'ambiente, possono spiegare perché la società umana ha un comportamento caotico.

Nell'insieme possiamo concludere che per tutte le caratteristiche di comportamento, sia negli esseri umani sia negli animali, c'è un duplice controllo, in parte genetico e in parte ambientale. Il controllo genetico determina lo sfondo della personalità, che è quello meno evidente, mentre l'ambiente ne determina le punte. Possiamo perciò considerare l'individuo come un quadro, in cui la cornice è l'attività dei geni e l'immagine l'effetto dell'ambiente. Ogni individuo è nato con la cornice, entro cui successivamente l'ambiente dipinge l'immagine. Le cornici di individui diversi possono essere grandi o piccole, quadrate o rotonde, forse anche irregolari, limitando così la possibilità del disegno. Ma è probabile che in molti aspetti del comportamento l'informazione derivante dall'ambiente domini sull'informazione genetica, cioè le tendenze innate, gli istinti.

Ambiente e cervello

L'effetto dell'ambiente sullo sviluppo del cervello è dimostrato in modo evidente da studi sulle parti del cervello connesse con gli occhi,

specialmente in relazione al ruolo dei due occhi nel creare un'immagine. Durante lo sviluppo nell'embrione di un mammifero, fibre nervose crescono dalla retina di entrambi gli occhi e convergono su un centro nervoso alla base del cervello. Alla nascita, le fibre derivanti da entrambi gli occhi riempiono quel centro, e non è possibile dire quale parte di esso sia connessa con l'uno o l'altro occhio. Dopo la nascita tutte le connessioni cambiano progressivamente, e le fibre provenienti da ciascun occhio riempiono solo una metà del centro; alla fine, ogni metà di quel centro è connessa esclusivamente con un occhio. Però se l'animale dopo la nascita non può usare uno degli occhi, questa suddivisione non si forma: le fibre provenienti dall'occhio inattivo progressivamente spariscono, mentre quelle provenienti dall'occhio attivo riempiono via via tutto il centro.

Cambiamenti simili avvengono, in modo più o meno pronunciato, in tutte le parti del cervello recente: le connessioni iniziali non sono mai permanenti, ma vengono modificate in relazione al loro uso. Se una fibra nervosa proviene da una cellula nervosa molto attiva, le sue connessioni persistono, e spesso si arricchiscono a causa della formazione di diramazioni; se invece la fibra proviene da una cellula poco attiva, le sue connessioni diminuiscono finanche a scomparire. Questi effetti sono pronunciati specialmente subito dopo la nascita, ma continuano, sebbene con attività ridotta, durante tutta la vita. È per questa ragione che agli anziani si consiglia di tenere il cervello il più attivo possibile, per contenere l'inevitabile tendenza alla perdita di connessioni dovuta all'età.

Con i moderni mezzi di indagine è possibile studiare le modificazioni che avvengono con l'età nella distribuzione delle zone ricche di cellule nervose (cosiddetta «sostanza grigia») e quelle ricche di fibre nervose, che connettono le cellule («sostanza bianca»). Questi studi hanno dato risultati interessanti. Essi dimostrano che c'è una forte evoluzione del cervello dall'inizio della pubertà fino ai 20 anni circa, da uno stato in cui la sostanza grigia predomina, a uno in cui essa viene largamente sostituita da sostanza bianca. Il cambiamento comincia nell'area posteriore del cervello e procede verso quella frontale, che viene considerata molto importante per il comportamento dell'individuo. Perciò il cervello adulto esiste solo dai 20 anni in poi. Il cambiamento indica un progressivo sviluppo delle fibre nervose, con la formazione di estese reti di comunicazione tra cellule nervose presenti in varie parti del cervello. Queste connessioni sono l'elemento più importante del cervello adulto: anche se il numero di cellule nervose non cambia, la formazione di reti di connessioni più sviluppate

permette un uso più appropriato del cervello, che può analizzare in modo più sofisticato l'informazione che lo raggiunge.

Questa evoluzione spiega i profondi cambiamenti di attitudine e di comportamento che avvengono prima dei 20 anni; per esempio il comportamento è meno prevedibile nei giovani, che tendono a rispondere in modo esagerato alle loro sensazioni. Lo sviluppo delle connessioni, specialmente quelle riguardanti l'area frontale del cervello, è necessario per dare risposte più bilanciate e meno impulsive. Questi cambiamenti del cervello possono spiegare perché un giovane può commettere atti criminali in situazioni in cui un adulto si comporterebbe in modo diverso, più consono alle tradizioni e alle leggi. Per queste ragioni i crimini commessi dai giovani sotto i 20 anni devono essere considerati in modo diverso da quelli commessi da adulti.

Mentre le aree di sostanza bianca hanno queste importanti funzioni nel cervello umano, quelle di sostanza grigia presenti nell'area frontale e in altre aree, contribuiscono di più all'intelligenza, misurata dal QI (quoziente intellettivo).

I cambiamenti del cervello che avvengono nell'età giovanile sono dipendenti dall'ambiente, i cui stimoli favoriscono lo sviluppo delle nuove connessioni. Quali connessioni siano stimolate dipende dal tipo di stimolo. Perciò il contesto in cui un ragazzo cresce ha un'influenza decisiva sul suo sviluppo mentale, e perciò sul suo comportamento come adulto. Ciò è in accordo con l'insegnamento della Chiesa cattolica: *Sinite parvulos venire ad me,* cioè «lasciate che i piccoli vengano a me». Certo, l'educazione rappresenta la base di una società civile. È dunque possibile che il forte aumento della criminalità osservato negli anni recenti, specialmente tra i giovani, sia dovuto al peggioramento dell'ambiente in cui essi sono stati fatti crescere, spesso in assenza di una famiglia, in situazioni degradate, esposti agli esempi degli altri giovani della strada, usando giocattoli che stimolano l'aggressività, passando le giornate di fronte a un apparecchio televisivo che trasmette programmi pieni di violenza, con il solo scopo di attrarre l'attenzione dello spettatore per aumentare il guadagno di chi li produce. Nella specie umana osservare la violenza è evidentemente affascinante, soprattutto in tenera età, quando mancano i valori che la società ha sviluppato nella sua lenta evoluzione plurimillenaria, e che sono trasmessi con gli esempi. Quindi gli spettacoli che attraggono i giovani, in cui si promuovono gli istinti più primitivi, possono concorrere a sbilanciare lo sviluppo del cervello, favorendo le parti capaci di perpetuare

tali istinti, con la perdita di quelli relativi alla razionalità.

In conclusione abbiamo una risposta alla domanda: che cosa siamo noi? Possiamo dire che siamo il risultato sia dei geni sia dell'ambiente, l'influenza di uno o dell'altro essendo prevalente a seconda delle circostanze. È essenziale tenere a mente che i due fattori agiscono insieme. In questo periodo in cui si pone molta enfasi sullo studio dei geni e sulla loro influenza sugli esseri umani, il ruolo dell'ambiente non deve essere sottovalutato. D'altra parte il ruolo dei geni non deve essere dimenticato anche in casi in cui un fattore ambientale sembra avere un ruolo esclusivo, come nelle malattie infettive. Queste malattie, infatti, sono dovute a interazioni complesse tra l'agente infettivo e le cellule del corpo; geni capaci di controllare le infezioni sono infatti noti. Tali interazioni possono spiegare un episodio connesso con la controversia che durante il XIX secolo nacque attorno alla scoperta del batterio del colera da parte di Robert Koch. Alcuni scienziati che rigettavano il ruolo del batterio nella malattia ingoiarono come sfida una coltura del batterio: nessuno di loro ebbe alcun sintomo di malattia!

L'anima

Ma queste considerazioni sono sufficienti per completare la conoscenza di noi stessi? Questa domanda ci porta a un'altra considerazione suggerita da un concetto antico, espresso dall'esortazione di Socrate: «Conosci te stesso». Questo imperativo fu tenuto in alta considerazione, tanto che fu iscritto sull'antico tempio di Apollo a Delfi. Che cosa veramente si intendeva con queste parole? Il biologo si domanda: che cosa vuol dire conoscere se stessi?

«Conoscere» può avere significati differenti. Io posso incontrare un uomo per la strada, riconoscerlo e stringergli la mano: questa è una conoscenza dei caratteri esteriori, della fisionomia, del modo di camminare e così via. Se io mi fermo a parlare con lui, forse mi racconterà qualche cosa che gli è capitata recentemente, per esempio che ha ricevuto una multa che non si meritava, e nella sua rabbia rivelerà un po' dei suoi sentimenti: questa è una conoscenza più profonda. Tuttavia, anche se io parlo con lui per qualche tempo, non sarò capace di scoprire i suoi pensieri intimi. Se potessi far ciò sarebbe una conoscenza molto più completa.

Ma forse nell'ammonimento del filosofo greco c'è qualcosa di più: il «te

stesso» potrebbe riferirsi a qualcosa di più profondo, l'origine dei pensieri di quell'uomo, i suoi desideri, preoccupazioni e rimpianti, qualcosa di permanente, che non cambia nel tempo o nello spazio, qualcosa legato irreversibilmente alla sua personalità. Qualcosa che è in tutti noi, ma non ovvio, e che dobbiamo cercar di capire per affrontare i problemi che incontriamo nella vita. Cosa potrebbe essere? Potrebbe corrispondere ai nostri geni, che esistono fin dalla formazione dell'embrione e accompagnano l'individuo dalla vita fetale a quella adulta e a ogni stadio determinano il destino dell'individuo.

Ma si potrebbe dire: che cosa hanno a che fare i geni con la preoccupazione dell'individuo su una multa che lui considera non meritata? È difficile rispondere a questa domanda, perché la mente di una persona è fino a un certo punto come un computer, con programmi fissi, determinati dai geni, e programmi aggiunti successivamente, che sono indipendenti dai geni e cambiano a seconda degli eventi della sua vita. Per esempio, uno dei programmi fissi contiene l'informazione necessaria per imparare una lingua, e i programmi aggiunti determinano quale lingua uno parla. Nel caso particolare di quell'uomo non potremmo dire quale parte del programma determini la sua rabbia.

Però forse Socrate non si riferiva al fatto che l'uomo aveva avuto la multa e continuava a pensarci, ma alla reazione che il pensiero gli suscitava dentro di sé. Un uomo è preoccupato e arrabbiato, ma continua ad andare avanti senza eccitarsi troppo; un altro potrebbe cadere in una profonda depressione; oppure potrebbe rispondere con rabbia, accusando il vigile di essere cattivo, disonesto; e qualcuno potrebbe anche andare a prendere una pistola e sparare al vigile, o magari a un altro vigile per soddisfare un'inarrestabile sete di vendetta. Forse quando il filosofo si riferisce a «te stesso» allude a qualcosa al fondo dei nostri pensieri, che dà loro colore e forza e li dirige su una via predeterminata. Se interpretiamo il «te stesso» in questo modo, è plausibile che corrisponda ai nostri geni, o a qualche cosa di più complesso, la nostra anima, che non determina direttamente il comportamento dell'individuo, ma lo dirige in una certa direzione, di ottimismo o pessimismo, di disperazione o felicità.

Che cos'è dunque l'anima? Ritornando alla domanda di Socrate, e alla possibilità che il «te stesso» sia l'anima dell'individuo, possiamo ora chiederci quale sia la posizione dell'anima rispetto alle impronte che i geni e l'ambiente lasciano nell'individuo. Secondo un dizionario, la parola «anima» può avere più di un significato, di cui i principali per la nostra

discussione sono i seguenti: 1) la parte spirituale e immateriale dell'essere umano, spesso considerata immortale; 2) la natura morale o emotiva o intellettuale di una persona o di un animale. Il primo significato è la concezione religiosa dell'anima, che non possiamo esaminare qui perché non ci sono al riguardo osservazioni documentate e non può essere oggetto di sperimentazione. Il secondo significato è probabilmente equivalente al «te stesso» del filosofo. L'anima definita in questo modo dovrebbe esser costituita da due componenti principali. Una, fornita dai geni, è ereditaria ed è espressa dai centri del sistema limbico e dalla struttura basale della corteccia; è il programma fisso del computer cerebrale. L'altra parte, acquisita attraverso l'esperienza, è espressa dalla struttura finale della corteccia, e corrisponde al programma flessibile del computer.

Secondo questo concetto l'individuo diventa cosciente della sua anima, che è formata da sensazioni e idee, solo dopo che il sistema nervoso si è formato, durante lo sviluppo dell'embrione nell'utero. Precisamente a che punto questo succeda non lo sappiamo. Il neonato esprime fondamentalmente l'anima ereditata (cercando la madre, volendo mangiare, lamentandosi ad alta voce per ogni disturbo), e, come impara e accumula esperienza, rapidamente esprime i nuovi componenti dell'anima scolpita dall'ambiente. L'anima poi continua a svilupparsi attraverso tutta la vita, arricchita dai contributi dell'esperienza.

Una componente essenziale della visione religiosa dell'anima è il concetto di immortalità; anche l'interpretazione che ne diamo qui riconosce la sua immortalità, sebbene in un modo diverso. La trasmissione di una componente dell'anima attraverso i geni assicura la sua presenza in tutti gli esseri umani e la sua persistenza attraverso le generazioni; e, in una società stabile, la continuità dell'ambiente mantiene con il tempo anche la continuità della componente acquisita. A sua volta, l'anima di un individuo influenza l'ambiente, fornendo il proprio contributo attraverso le sue azioni, e in questo modo rinforza la continuità dell'ambiente, e indirettamente anche l'anima degli altri individui della specie.

Libero arbitrio

La dipendenza dell'anima, della personalità, da influenze ben definite dei geni e dell'esperienza sembra suggerire che il comportamento dell'individuo sia, in qualunque momento, determinato dallo stato dei due

controllori. Sembrerebbe, perciò, che l'individuo non abbia libertà di scelta, e che, di fronte a una certa situazione, la sua risposta sia rigidamente prefissata. Se fosse così, l'individuo non avrebbe alcuna responsabilità. L'espressione: «I geni me l'hanno fatto fare», modificata in: «I geni e l'ambiente me l'hanno fatto fare», sarebbe perfettamente valida.

Tutto ciò è vero? Questo problema non è facile da risolvere, perché non è facile stabilire se in un determinato momento un individuo abbia davvero libertà di scelta. In ogni caso, a causa della grande capacità del cervello di ritenere memorie di situazioni, la risposta a una nuova circostanza non sarà semplice, come l'aforisma suggerisce, bensì piuttosto complessa. Facciamo un esempio: un guidatore raggiunge un semaforo con luce rossa: che cosa farà? Naturalmente la risposta semplice è che si fermerà. Tuttavia, ricordo che alcuni anni fa un mio amico di Napoli mi disse che in quella città un semaforo rosso non era inteso come un ordine di fermarsi, ma piuttosto come un consiglio a farlo. Però sembra che non sia più vero oggi. Comunque, l'azione del guidatore dipenderà da varie circostanze: se c'è traffico proveniente da altre direzioni, se l'incrocio è libero eccetera. Nel caso ci sia traffico da altre direzioni, si deve determinare se il guidatore possa attraversarlo senza pericolo, prendendo in considerazione la velocità e affidabilità della sua macchina, specialmente se deve fare una svolta stretta. Il guidatore considererà anche i possibili effetti negativi della sua azione: che potrebbe ricevere una multa, far del male a qualcuno che non vede, danneggiare la sua macchina se perde il controllo o urta qualche cosa e così via. Tutte queste possibilità sono valutate nel breve tempo in cui una decisione deve essere presa. La decisione dipenderà dalla valutazione di tutte queste possibilità, e probabilmente da altri fattori ancora, come la filosofia generale del guidatore verso la legge e le sue abitudini nel guidare.

Nella situazione di questo esempio la decisione non è meccanica, ma dipende dalla valutazione di molti elementi pro e contro. Forse è questo ciò che si intende come libertà di scelta: la possibilità di molte soluzioni diverse dà l'impressione che la scelta sia libera, sebbene in realtà non lo sia, perché il numero di azioni possibili, sebbene grande, non è infinito. Quando una decisione deve essere presa in un tempo breve non è possibile fare una valutazione completa delle possibilità, e quella che domina (o per ragioni genetiche o in base all'esperienza) viene attuata. Mentre quando c'è molto tempo per arrivare a una decisione, e c'è molta esperienza sul problema da decidere, la situazione è quasi equivalente a una completa

libertà.

Quando ci troviamo di fronte alla situazione del guidatore al semaforo rosso noi non sappiamo che ruolo abbia l'ambiente in cui è cresciuto sulla sua decisione. Infatti è probabile che abbia un'influenza importante, perché l'ambiente ha un forte effetto sull'attività dei vari organi del corpo, influenzando le diverse modalità del loro sviluppo mentre l'organismo progredisce dall'embrione alla persona adulta. L'ambiente ha anche un notevole effetto sulle funzioni del cervello perché molte attività mentali si sono sviluppate con lo scopo di permettere la vita dell'individuo in relazione all'ambiente. In certi contesti una buona attenzione e una rapida risposta a variazioni esterne è essenziale per sopravvivere, mentre in altri la profondità di osservazione e una calma valutazione degli eventi è più importante. Perciò il cervello di un individuo è modellato durante lo sviluppo in modo da rendere la sua azione ottimale nelle varie circostanze della vita. La parte più recente del cervello, connessa con la razionalità, può adattarsi efficacemente alle condizioni esterne; per le parti più vecchie, connesse con gli istinti, l'adattamento deve essere avvenuto durante l'evoluzione.

Da quello detto sinora possiamo concludere che quando pensiamo a noi stessi abbiamo di fronte un vasto paesaggio, in gran parte coperto da nubi e banchi di nebbia. Infatti noi sappiamo ben poco di noi stessi. Oggi abbiamo la conoscenza iniziale del nostro genoma, ma per il momento essa non è sufficiente a dissolvere le nubi. I geni li abbiamo di fronte come sequenze del DNA, ma come essi determinino il complicato paesaggio non lo sappiamo. Per poterlo fare dovremo conoscere qual è il ruolo di ciascuno di essi nelle complicate funzioni dell'organismo. Ma prima di poterlo fare dovremo scoprire queste funzioni nei loro dettagli. Ciò è molto difficile, specialmente per quello che riguarda le funzioni mentali, che sono nascoste nell'infinita complessità del cervello. Queste sono sfide che la scienza ha già accolto; il progresso è continuo, e pian pianino si chiarificherà ogni cosa. Certo tutto sembra molto difficile all'inizio, ma è come per il genoma: con un forte impegno si raggiungerà l'obbiettivo.

Il gene egoista

Le proprietà della vita

I geni sono la chiave della vita. Ma che cos'è la vita?

Sembra semplice: la vita è fatta di persone, di animali, di piante. Se si vuole essere ancora più sofisticati, si può accettare che ci siano anche forme di vita che non sono visibili a occhio nudo, come i batteri e altri parassiti, e persino forme invisibili al microscopio, come i virus. Certamente la varietà è enorme. Ma se guardiamo agli esseri viventi con gli occhi della scienza moderna, la varietà diminuisce, perché tutti gli esseri viventi sono fatti dall'associazione di molecole di relativamente pochi tipi. Gli esseri viventi sono come mosaici, composti di tasselli multicolori; il disegno di ciascuno di essi deriva dal numero e dall'ordinamento dei tasselli. Ci sono mosaici con pochi pezzi, altri con un gran numero; più alto è il numero, più complicato è il disegno. Perciò una cosa che gli esseri viventi hanno in comune è come sono costituiti.

Un'altra proprietà comune a tutti gli esseri viventi è la capacità di riprodursi. Devono farlo perché ogni individuo, di qualsiasi specie, ha una vita limitata, sebbene di lunghezza diversa a seconda della specie. Questo perché le molecole necessarie alla vita non sono eterne; vengono usurate nel compiere i loro compiti, e sono danneggiate dai componenti dell'ambiente, anche i più normali, come l'ossigeno o la luce solare. Perciò se gli esseri viventi non si potessero riprodurre, non potrebbero esistere. Certe forme di vita, quali semi, spore o virus, possono persistere per lungo tempo in una forma latente, e non vengono danneggiati; sono quasi come cristalli. Ma in queste condizioni non sono vivi, perché non dimostrano nessuna caratteristica degli esseri viventi: non usano energia, non cambiano, sono come mummificati. Poi, nelle circostanze adatte, ritornano a vivere e diventano capaci di riprodursi.

Alla base della vita, all'inizio dell'evoluzione, le forme più primitive (che noi non abbiamo mai visto) devono essere state fatte in modo molto elementare, da molecole che, nonostante la loro semplicità, erano capaci di

riprodursi. Il modo più facile per la riproduzione di una molecola è agire da modello per la formazione di una molecola identica a se stessa. Noi conosciamo due metodi usati dalla vita per raggiungere questo scopo. Uno è quello utilizzato dal DNA, che lo fa in due stadi: prima un filamento fa un'immagine speculare di se stesso, e poi questa fa un'altra immagine speculare, che così riproduce il filamento originario. Questa è la ragione per cui il DNA è fatto di due filamenti speculari uniti insieme: un filamento contiene l'informazione del gene, l'altro non ha altra funzione che permettere la riproduzione. L'altro metodo è quello usato da certi agenti infettivi noti come «prioni» (quelli che causano la malattia della mucca pazza); essi sono fatti di una proteina che può esistere in due forme, a seconda del modo in cui è raggomitolata su se stessa. Quando un pilone viene costruito da una cellula, esso acquista la forma normale, che non è dannosa; ma occasionalmente, forse a causa di un contatto con qualche altra proteina, si può modificare e può assumere la forma dannosa. Questa persiste perché è molto stabile, e, se si associa a una molecola normale della stessa proteina, la abbraccia tanto fortemente che la fa diventare come se stessa, cambiandola da normale a dannosa. In questo modo la forma dannosa si riproduce, convertendo le forme normali presenti nella cellula.

Noi non sappiamo quali fossero le molecole della vita al suo inizio. A quel tempo esse erano presenti in qualche parte del nostro pianeta, forse in qualche lago contenente un brodo, cioè una miscela di molte sostanze necessarie alla formazione delle molecole, che venivano costruite mettendo insieme vari pezzi, forse usando energia fornita dal sole o da fulmini. Queste molecole dovevano riprodursi con una velocità sufficiente a rimpiazzare quelle che morivano per l'azione dannosa dell'ambiente circostante: la temperatura troppo elevata dell'acqua, l'intensità della luce solare, le sostanze tossiche. Quelle più resistenti duravano di più, così diventarono predominanti; quindi fin dal principio la vita fu basata sulla competizione.

A un certo punto nell'evoluzione della vita ci deve essere stato un avvenimento cruciale: la comparsa di molecole adatte a cooperare e a formare gruppi capaci di funzioni nuove. In questi gruppi una molecola capace di riproduzione divenne l'elemento centrale, la molecola chiave, determinando la formazione di altre molecole incapaci di riproduzione, ma capaci di altre funzioni. Le varie molecole rimanevano insieme cooperando per il bene collettivo, mentre la molecola chiave possedeva il

codice per la formazione di ulteriori molecole. Nelle sue forme essenziali, questo modello divenne fondamentale per la vita, e persiste tuttora; la molecola chiave diventò il gene.

Competizione ed egoismo

Il nuovo organismo, per sopravvivere, doveva essere compatibile con l'ambiente; più si era adattato, più rapidamente si riproduceva. Ma con il tempo presero vita organismi diversi, o perché qualche nuovo tipo si formò spontaneamente, o perché la cellula chiave di quello esistente produsse qualche variante. Tutti gli organismi ricavavano le sostanze necessarie per la loro sopravvivenza dal brodo stesso, ma esse erano in quantità limitata. Allora la competizione diventò forte, e i vari organismi dovettero cominciare a combattersi. Gli organismi più adatti all'ambiente vinsero e diventarono predominanti. Così fin dal principio il gene fu un parassita dell'ambiente e un competitore spietato. Il gene era cioè egoista.

L'egoismo del gene è stata una sua caratteristica da quel momento in poi. Quando, più tardi, il gene venne incorporato in una cellula, determinandone le caratteristiche, l'egoismo diventò una proprietà della cellula. Successivamente, la transizione da un organismo unicellulare a uno multicellulare comportò cambiamenti importanti nell'azione dei geni: essi e la cellula dovettero imparare a lavorare insieme e, di conseguenza, dovettero rinunciare in parte al loro egoismo per il bene comune. Il cambiamento più importante fu lo sviluppo di controlli che obbligarono i geni ad agire solo in risposta a segnali adatti. Ma l'egoismo non andò perduto: fu trasferito da un gene al complesso dei geni nella cellula primitiva, che si sviluppò come un'unità egoista. Più tardi, quando comparvero organismi fatti di molte cellule, ogni cellula dovette rinunciare in parte al suo egoismo, accettando il controllo della sua riproduzione per permettere la formazione dell'organismo. E allora l'intiero organismo diventò egoista.

Oggi noi possiamo riconoscere la caratteristica dell'egoismo nelle cellule più semplici, i batteri: se due batteri vengono immessi in un brodo in cui un componente essenziale è in quantità limitata, il batterio che lo sa utilizzare in modo più efficiente cresce meglio, e con il tempo diventa predominante. E se due batteri vengono immessi in un brodo contenente un antibiotico, quello che possiede un gene che lo rende resistente

all'antibiotico continua a crescere, l'altro muore.

Però certi geni continuano a essere egoisti dentro una cellula, come è dimostrato dalle sequenze ripetute presenti nei DNA degli organismi avanzati. Questi geni non sono di evidente utilità all'organismo, ma continuano a riprodursi, invadendo il genoma. Essi hanno il macchinario per riprodursi, e lo usano indipendentemente della riproduzione della cellula in cui si trovano; così aumentano di numero. Sono dei veri parassiti. Per sopravvivere, l'organismo che li ospita deve combatterli. Però non tutti i geni estranei presenti in una cellula si comportano in questo modo. Un esempio è dato dai geni delle particelle presenti nel citoplasma delle cellule, i mitocondri. Essi entrarono nelle cellule come batteri parassiti, ma poi si adattarono a formare un insieme funzionale con la cellula ospite. I mitocondri mantengono la capacità di riprodursi, ma lo fanno in armonia con la riproduzione della cellula. La loro presenza nella cellula è utile a entrambi: il mitocondrio produce energia per la cellula, e la cellula fornisce al mitocondrio riparo, sostanze nutritive e il prodotto di alcuni geni necessari per la sua formazione e per la sua attività. In questo modo il parassitismo si è trasformato in un'alleanza da cui entrambi i partner prendono vantaggio. Ma, con qualche eccezione, egoismo e cambattività sono caratteristiche dei geni a ogni livello, come cita un famoso detto: la prima legge della natura è la conservazione di se stessi.

L'egoismo e la vita

A questo punto ci possiamo chiedere come l'egoismo dei geni, e perciò delle cellule, si rifletta sulla vita di organismi complessi, quali gli esseri umani. Esempi di egoismo umano li possiamo vedere tutti i giorni: basta gettare uno sguardo su un giornale per averne una buona lista. Però gli esseri umani hanno anche caratteristiche che sembrano contraddire l'idea dell'egoismo: un esempio è la capacità di vivere insieme, di obbedire alle leggi, di essere generosi, di aiutare gli altri persino a scapito della propria vita.

In realtà in tutto ciò non c'è contraddizione. Tutte queste caratteristiche umane sono l'espressione di un attributo comune ad altre forme di vita, l'altruismo. Un esempio di altruismo si vede nel comportamento di certi scoiattoli. Questi animali vivono in gruppi in cui un animale agisce costantemente come guardiano contro l'avvicinarsi di un predatore. Se ne

vede uno, dà l'allarme ai suoi fratelli, che si nascondono; ma, nel fare così, egli stesso cade preda del predatore e perde la vita.

L'equivalente tra gli esseri umani è uno che perde la vita cercando di salvare un'altra persona che sta affogando. Noi magari non pensiamo all'atto di questo individuo come equivalente all'atto dello scoiattolo: si pensa che la sua azione sia il risultato di un processo logico, in cui l'uomo valuta le circostanze, con la conclusione che la persona in pericolo può essere salvata senza rischi per se stesso; ma poi qualche cosa non funziona come aveva previsto e il salvatore perde la vita. Nel caso dell' animale, invece, si presume che l'azione sia automatica, dovuta a un istinto. In realtà la differenza non è grande: entrambe le creature rispondono a ordini dei loro geni, che agiscono in modi differenti, più direttamente nell'animale e meno nell'uomo. Non c'è dubbio che il comportamento dell'animale dipenda dai suoi geni, perché tutti gli individui della stessa specie agiscono in quel modo; ed è anche chiaro che i geni hanno qualcosa a che fare con il tentativo di salvare la persona in pericolo, perché l'azione è ripetuta frequentemente da individui diversi che non hanno mai visto un tentativo del genere. Evidentemente, anche nell'uomo non è qualcosa che viene imparato, sebbene vedere un esempio possa indurre una risposta simile.

Ma, allora, sembra che ci sia confusione: il gene è egoista o altruista? La risposta è che il gene altruista è anche egoista, però opera a livello di gruppi di organismi, di società. La formazione di una società ha lo scopo di proteggere l'individuo attraverso l'azione di tutto il gruppo. Nella società degli scoiattoli ogni individuo rischia di essere massacrato dal predatore quando è di guardia, ma esso è protetto quando non è di guardia, il che è molto più frequente. Perciò la bilancia è a favore dell'individuo; questo rinforza l'altruismo. Se in un animale l'altruismo andasse perduto a causa del cambiamento in qualche gene, e perciò l'animale abbandonasse il gruppo, esso sarebbe sempre esposto a un alto rischio e non vivrebbe a lungo: il gene modificato scomparirebbe.

Perciò non c'è contraddizione tra l'egoismo dei geni animali o umani e le molte forme di altruismo o vivere sociale che vengono praticate sia dall'uomo sia dagli animali. Nel comportamento sia dell'uomo sia dello scoiattolo noi riconosciamo il marchio dei geni, che sono diretti, in generale, alla sopravvivenza dei gruppi, della società, e forse anche di tutta la specie, superando la tendenza alla sopravvivenza del singolo. La sopravvivenza della società ha la precedenza, e occasionalmente l'individuo è sacrificato per raggiungere quell'obbiettivo.

L'egoismo dei geni in certi casi raggiunge punti estremi, quando lavorano accanitamente a impedire cambiamenti che potrebbero condizionare la loro funzione. Essi vogliono mantenere lo status quo. Questo lo vediamo quando qualche gene viene alterato mentre si riproduce: allora molti geni vengono mobilitati per correggere l'errore. Spesso questo ha successo, e la cellula sopravvive felicemente senza alterazioni; ma se non ha successo, un gene sinistro entra in azione e la condanna a morte. La sentenza viene eseguita in un modo molto elaborato, con la partecipazione di parecchi geni, che sono i boia. Uccidendo la cellula questi geni uccidono anche se stessi, ma questo è il principio generale: la morte di un gene o di una cellula salva l'insieme dei geni e delle cellule, in questo caso l'organismo.

L'individuo e la società

Il ruolo dei geni nella formazione degli esseri umani deve essere considerato in modo differente a due livelli: dell'individuo e della specie. A livello dell'individuo i geni determinano circa la metà delle caratteristiche, mentre l'altra metà è controllata dall'ambiente; ma a livello della specie i geni le determinano quasi tutte. A livello dell'individuo i geni cominciano ad agire quando si forma l'uovo fecondato e finiscono con la sua morte. Attraverso la vita, la loro influenza è bilanciata dall'effetto dell'ambiente generale. A livello della specie le cose sono diverse. Appena la specie è formata, le sue attività cominciano a modificare l'ambiente, e si continua così una generazione dopo l'altra. Durante tutta l'esistenza della specie l'ambiente a cui i membri sono esposti, sebbene non controllato dai membri stessi, è fortemente influenzato dalle attività di tutte le generazioni precedenti. La persistenza dell'ambiente, e la sua relazione con i geni, è importante soprattutto per la specie umana, data la sua continuità culturale attraverso le generazioni; mediante la storia e l'evoluzione, questa continuità si può far risalire all'origine dei tempi. Dunque i geni agiscono sull'essere umano in due modi: i geni dell'individuo contribuiscono per circa la metà del suo comportamento; quelli dei predecessori partecipano forgiando l'ambiente culturale che circonda l'individuo, e così agiscono su di esso. Perciò, mentre l'azione diretta dei geni di un individuo è parziale, la loro azione generale sulla specie è totale: una specie è soltanto i suoi geni.

L'egoismo dei geni e le sue ripercussioni sugli individui rendono la società umana molto instabile, come si può dedurre dai continui cambiamenti di valori e influenze, dalla formazione di conflitti e della loro risoluzione. Questa instabilità, che deriva dal comportamento degli individui, ci fa rigettare l'idea che gli esseri umani siano dei robot, che dovrebbero comportarsi sempre seguendo le istruzioni del programma genetico. L'idea degli uomini-robot potrebbe essere suggerita dal fatto ormai noto che gli individui sono guidati da un programma fatto di due parti: una fissa, immutabile, controllata da un gruppo di geni, l'altra variabile, che risponde a segnali ambientali secondo un piano determinato dall'altro gruppo di geni. Questo quadro porterebbe a ritenere il comportamento umano altamente prevedibile, ma non è il nostro caso; poiché il quadro è fondamentalmente valido, forse è incompleto. Come abbiamo visto, gruppi di geni formano una rete di interazioni per cui nell'insieme essi emettono un gran numero di segnali; questi interagiscono positivamente o negativamente, l'uno con l'altro, producendo continue variazioni, generalmente imprevedibili. E individui diversi producono segnali diversi.

Un fatto che può contribuire a rendere il comportamento umano imprevedibile, è che in qualunque situazione un individuo ha a disposizione un vasto numero di scelte, che si aggiungono alla grande diversità dei segnali provenienti dai geni. Perciò il programma che controlla la risposta a un segnale è differente nei geni dei vari individui, forse in modo non fondamentale, ma in dettagli di importanza considerevole, e varia continuamente persino nello stesso individuo. Ne deriva che il numero di scelte a disposizione cambia sempre, ed è aumentato dalle interazioni tra individui, perché il programma di un individuo è influenzato da quelli degli altri, e il numero di individui che interagiscono può essere molto flessibile, ed è spesso molto grande. Perciò il programma non è fisso, ma cambia continuamente, sia per lo stato variabile dei geni dell'individuo, sia per le interazioni con altri individui.

La complessità delle interazioni che influenzano i programmi, le continue variazioni del loro contenuto e l'importanza che hanno per ciascun individuo tendono a rendere instabile la società umana. Un'importante componente dell'instabilità è l'enorme variabilità del peso che ogni individuo dà ai segnali ricevuti dall'esterno. Per esempio, la notizia di un certo avvenimento udita per la prima volta attraverso un canale di comunicazione può avere poca influenza, ma se la stessa notizia

viene ricevuta attraverso altri canali, il suo impatto può aumentare enormemente. In termini matematici, si direbbe che la risposta al segnale non è lineare: un raddoppiamento dell'intensità del segnale può aumentare l'intensità della risposta molte volte (cento? mille?), ma in modo imprevedibile. Probabilmente, questo è vero per ogni segnale ricevuto. Tale risposta anomala è la base del «comportamento caotico», in cui la variazione di intensità della risposta a un segnale può avere differenze così grandi da essere incalcolabile. Un esempio di comportamento caotico usato spesso (un po' per scherzo) è quello di una farfalla che sbattendo le ali nel Canada causa un uragano nei Caraibi. La spiegazione è la seguente. Le correnti d'aria provocate dalle ali della farfalla si aggiungono a una corrente più forte e la fanno deviare leggermente; questa causa la fusione della corrente con un'altra corrente, e attraverso molti stadi simili si genera una forte corrente nell'Atlantico; quando essa si congiunge con un'altra forte corrente nella stessa regione, si forma l'uragano.

Però sistemi con comportamento caotico hanno anche qualche regolarità: entro certi limiti di forza del segnale la risposta tende a essere concentrata in certi valori piuttosto stabili, che sono caratteristici di ciascun sistema. Un sistema di questo tipo è l'atmosfera, perché ogni molecola d'aria è soggetta a influenze da parte di tutte le altre molecole in modo tale che i cambiamenti sono imprevedibili e tendono a ingrandirsi. Ne risulta un'atmosfera molto instabile, che però ha due stati abbastanza durevoli: uno è la calma, l'altro l'uragano; ciascuno di essi può durare parecchi giorni. Il meteorologo può dirci solo se siamo in uno stato instabile, con effetti imprevedibili, oppure in uno dei due stati relativamente durevoli. La società umana ha una struttura analoga, con alcuni stati relativamente stabili: uno è la pace, l'altro è la guerra e la rivoluzione, quest'ultima intesa come guerra tra gruppi entro un paese.

Il significato dell'egoismo

Queste considerazioni portano a concludere che lo studio dei geni e dei loro effetti deve essere inquadrato nello stato dell'intiera specie. Lo studio di un gene singolo può essere importante per capire la sua azione isolata, ma i risultati hanno significato limitato per il problema più vasto del ruolo del gene nella biologia dell'organismo a cui appartiene. In organismi complessi come gli esseri umani l'azione di ogni gene deve essere valutata

nel contesto delle azioni degli altri geni dello stesso individuo, che possono modificare, talvolta fortemente, la sua attività. Negli esseri umani, in aggiunta, il ruolo dei molti geni che in qualche modo influenzano il comportamento deve essere considerato a livello di tutta la società, tenendo conto della sua instabilità; se si cerca di influenzare artificialmente l'azione dei geni, essi devono essere valutati globalmente, perché attraverso le ripercussioni culturali essi possono avere un forte effetto sul sistema caotico dell'umanità.

L'egoismo del gene è una grande forza per lo sviluppo degli organismi di tutti i tipi durante l'evoluzione: senza la sua spinta non ci sarebbe stata evoluzione e noi saremmo ancora a nuotare nel brodo. D'altra parte è anche causa di dolori e sofferenze. In una società complessa come quella umana agiscono tutte e due le forze, positiva e negativa. Sono entrambe necessarie? Si può pensare a una società in cui non ci sia egoismo? Probabilmente sarebbe una società morta, senza iniziative. Ma ci sono punte, eccessi di egoismo che non contribuiscono allo sviluppo della società, anzi la danneggiano. Se queste punte sono dovute a geni superegoistici, non si può fare qualche cosa per controllarli?

Qui entra in azione la fantascienza, dicendo che c'è una via, ed è quella di modificare il gene superegoista, oppure toglierlo e rimpiazzarlo con uno normale. Ma immediatamente questo porta a un'altra domanda: che gene è? Possiamo rintracciarlo, ora che abbiamo la sequenza di tutto il genoma? Per ora non ne conosciamo le caratteristiche. Ed è un gene solo, oppure ce ne sono molti che collaborano? Purtroppo, la fantascienza non può rispondere a queste domande.

Allora, ritorniamo a una scienza ragionevole. Per cercare di migliorare la società e proteggerla dai geni superegoisti, bisogna cominciare con il definire come la presenza di questo gene possa essere individuata attraverso il comportamento delle persone che lo posseggono. Questo richiederà lunghi, approfonditi studi di carattere sociale. Ora, assumiamo che portino alla descrizione di tali individui. Lo stadio successivo sarebbe identificare un certo gruppo di essi, forse qualche centinaio. Bisognerebbe indurli a donare il loro DNA - il che potrebbe essere tutt'altro che facile - e determinarvi le variazioni (lo stato degli SNIP, *vedi* il capitolo «Il profilo genetico individuale») per poi paragonarlo a quello di individui classificati non superegoisti. Sarebbe un lavoro molto arduo per il gran numero di SNIP da usare e per la possibile molteplicità dei geni partecipanti alla caratteristica in esame.

Assumiamo che si arrivi all'identificazione dei geni superegoisti. A parte il suo interesse puramente scientifico, questa conoscenza potrà essere usata per migliorare lo stato della società? Questo si potrebbe fare se si conoscessero gli SNIP rilevanti in tutte le persone; allora gli individui con propensione al superegoismo potrebbero essere identificati, almeno in modo ipotetico. Però nel fare ciò molti punti dovrebbero essere considerati: per esempio, i geni potrebbero essere poco attivi o anche inattivi a causa della loro regolazione, forse per effetto dell'ambiente in cui gli individui si trovano; ci potrebbero essere degli *splicings* che ne diminuiscono l'efficienza; in alcuni casi la loro attività potrebbe essere controbilanciata da quella di altri geni. Perciò la presenza dei geni per il superegoismo non potrebbe essere presa come prova che quegli individui sono dei superegoisti potenziali; bisognerebbe fare degli studi ulteriori. La soluzione di questi dubbi richiederebbe certo molto sforzo e molto tempo.

Se, dopo tutto ciò, si arrivasse a individuare, con buona probabilità, individui predisposti a diventare superegoisti, che cosa si potrebbe fare con essi? Certo non si istaurerà un programma di eugenetica come quello usato al principio del XIX secolo: c'è troppo buonsenso al giorno d'oggi per pensare in questi termini, e, inoltre, non sarebbe possibile con le leggi attuali. L'idea di poter in qualche modo modificare i geni è, come già detto, fuori considerazione. E anche se fosse possibile, richiederebbe il consenso delle persone, ed è inverosimile pensare che esse lo accorderebbero. Perciò non ci sono possibilità in quella direzione.

Forse qualche cosa si potrebbe fare basandosi sull'esistenza di interazioni dell'ambiente con i geni, a cui nessuno può sfuggire; si potrebbe perciò trarre vantaggio dalla possibilità di modificare i geni superegoisti agendo sull'ambiente. Questo vorrebbe dire far leva sull'educazione dell'individuo, influenzare la scelta degli amici o dei programmi televisivi che segue; sarebbe un'azione concertata di tutti coloro che possono avere influenza sul singolo, senza obbligare l'individuo stesso a sottoporsi ad alcunché di speciale.

Tutto questo discorso sui geni superegoisti è, naturalmente, frutto di fantasia, senza vere connessioni con la realtà. Ma è un utile esercizio per pensare come aver a che fare con i geni nella realtà umana.

I geni e la società umana

L'egoismo

Il comportamento della società umana è basato sulla proprietà fondamentale dei geni: l'egoismo. L'egoismo agisce sull'individuo, ma causa anche la formazione di raggruppamenti di dimensioni varie tenuti insieme da relazioni altruistiche: la famiglia, il clan, il paese, i gruppi sociali o religiosi. Per questa ragione ogni azione umana è di natura egoistica: a ogni livello l'individuo cerca di arricchirsi in vari modi esercitando attività di vario tipo, sebbene ciò non sia ovvio: il politico e il militare cercano gloria e potere; lo scienziato vuol fare qualche grande scoperta per essere riconosciuto attraverso il conferimento di premi; i membri di gruppi religiosi accettano di seguire le regole per poter avvantaggiarsi su ciò che conta per loro: l'anima.

I vari gruppi, per poter raggiungere i loro scopi, devono agire in modo compatibile con gli altri gruppi. Tutti i mezzi usati per raggiungere questo scopo - le conversazioni, le concessioni, le minacce, gli aiuti finanziari e così via - sono un'espressione dell'egoismo che controlla i vari gruppi e li spinge a ottenere il più possibile senza incorrere nel pericolo di un conflitto. Finché questo metodo funziona, c'è pace; se fallisce, c'è guerra. Ogni organizzazione della società umana agisce in questo modo. Nelle società democratiche i politici lavorano per l'obbiettivo di ottenere gloria e potere, e gli elettori seguono il principio di maggior vantaggio e minimi danni. Nei paesi autoritari, anche il dittatore vuole gloria e potere, mentre la gente si preoccupa solo della propria sicurezza.

Che cosa mantiene l'impulso egoistico dei geni? Il loro ruolo è cambiato durante l'evoluzione. Nelle specie più semplici, come i batteri, essi hanno un ruolo diretto nella sopravvivenza dell'individuo: la differenza di un solo gene può determinare se un organismo muore o sopravvive. Questi geni agiscono direttamente nella competizione con altri organismi, perché in certe circostanze un gene può permettere alle cellule in cui risiede di crescere meglio delle cellule che ne sono prive. Nelle specie più avanzate,

per esempio i mammiferi, un ruolo simile non si può osservare, per varie ragioni. Una è che l'egoismo spesso protegge la specie, non l'individuo; un'altra ragione è che il singolo gene di solito non ha valore di sopravvivenza, che invece appartiene a gruppi di geni. È anche possibile che il carattere egoistico imposto dai geni in queste specie non sia sempre un fattore selettivo utile; potrebbe persino essere dannoso, per esempio provocando guerre. Dobbiamo concludere che questa caratteristica è stata parte della costituzione dei geni sin dall'origine della vita, e ha continuato a esserlo durante l'evoluzione, forse anche oltre il punto in cui può essere utile.

Nelle società umane il ruolo dei geni nell'incremento delle popolazioni non è così semplice e chiaro come nelle specie meno complesse. Tra gli esseri umani la tendenza all'espansione è evidente soprattutto quando si presentano nuove opportunità di accrescimento della popolazione. La notevole espansione nel mondo delle popolazioni che parlano inglese o spagnolo è dovuta all'invasione di aree sottopopolate da parte di piccoli gruppi di persone con attività imprenditoriali e con tecnologie avanzate; e questo è espressione di egoismo. Lo stesso, naturalmente, è vero per qualunque specie, anche per i batteri: infatti in una coltura sterile inseminata con un piccolo numero di batteri, se essi possono crescere nel mezzo di coltura, il loro numero aumenterà enormemente. Nella specie umana di solito il confronto di popolazioni attraverso la guerra generalmente non porta a un'espansione, ma, al contrario, a una diminuzione di entrambe le popolazioni a causa dell'aumento di mortalità, eccetto i casi in cui una delle parti abbia un forte vantaggio tecnologico. Il vantaggio tecnologico non si può attribuire direttamente ai geni: esso è il risultato di sviluppi culturali, spesso anche per ragioni accidentali, che però esercitano la loro influenza in periodi molto lunghi.

L'egoismo e lo scienziato

Gli esseri umani mostrano sintomi di notevole egoismo, ma nello stesso tempo possono produrre risultati che sembrano assolutamente altruistici, per esempio nel lavoro di uno scienziato. Ma è proprio vero? Questi individui sono veramente generosi? Consideriamo l'operato di uno scienziato, per esempio l'autore di questo libro, per vedere che cosa lo ha motivato. Alla fine della seconda guerra mondiale lo scienziato ritornò al

suo lavoro presso l'Istituto di Anatomia dell'Università di Torino, dove gli si presentavano diverse possibilità di ricerca; ma nessuna di esse era attraente. Così egli fece una cosa che nessun laureato in medicina aveva mai osato fare: si iscrisse al corso di laurea in fisica pura. L'idea era che questo gli avrebbe fornito nuovi mezzi per determinare il comportamento dei geni (che allora erano un'entità sconosciuta), studiando l'effetto delle radiazioni - raggi X, luce ultravioletta e altri. Ma forse la vera ragione del suo comportamento era dimostrare che poteva farlo. Il risultato fu ottimo perché, prima ancora di finire il corso, Salvador E. Luria, che aveva anch'egli studiato a Torino, gli offrì di andare a lavorare con lui all'Università dell'Indiana negli Stati Uniti, proprio per fare quel lavoro che il nostro scienziato aveva in mente.

In quel nuovo ambiente il nostro scienziato lavorò assieme a Luria su un argomento scelto dal suo mentore; ma presto trovò un altro problema che gli piaceva, e cominciò a lavorare su di esso in segreto, facendo gli esperimenti di notte. Gli sembrava giusto fare così perché non era certo della correttezza delle sue ipotesi. Solo quando ebbe finito gli esperimenti, che dimostravano l'esattezza delle sue tesi, li mostrò al suo maestro. Luria fu strabiliato; e forse, senza saperlo, il nostro scienziato voleva proprio questo. Voleva mostrargli che aveva delle idee sue, che era capace di formulare una buona teoria e di metterla alla prova con esperimenti appropriati, e di lì arrivare a una conclusione accettabile. Più tardi lo scienziato fece un'altra interessante scoperta, di nuovo completamente da solo: che la luce di una lampada a fluorescenza può risuscitare un virus ucciso dalla luce ultravioletta. La scoperta derivò da un'osservazione accidentale, e il nostro scienziato ne finì la descrizione in pochi giorni, mentre il suo mentore, per caso, era fuori sede per un meeting. Quando Luria ritornò gli fu presentata la scoperta; fu di nuovo strabiliato, ma questa volta anche preoccupato, perché si chiedeva se la nuova scoperta potesse gettare dei dubbi sul suo lavoro pluriennale. Risultò invece che non c'era pericolo: era un fenomeno indipendente, e Luria poté tranquillizzarsi.

Vediamo che il nostro ricercatore lavorò strenuamente per farsi un nome, per soddisfare il proprio ego. Ma lui non se ne rendeva conto, credendo solo di seguire la tradizione secondo cui uno scienziato deve fare delle scoperte, perché è pagato per questo; e voleva farle da sé. Pensava che la sua scelta di lavorare in segreto finché non fosse sicuro dei risultati fosse dovuta alla sua timidezza, alla mancanza di confidenza. Ma non era

così: il suo era puro egoismo. Dopo due anni con Luria, al nostro scienziato fu offerta una posizione al Caltech di Pasadena, in California. Lui chiese a persone competenti se quella fosse una buona università, paragonata all'Università dell'Indiana. Quando gli fu consigliato di andare al Caltech, lui lo fece abbandonando però il suo tutore, che fu profondamente addolorato dalla decisione; ma la sua reazione non disturbò il nostro scienziato, che era felice di una nuova avventura. Anni dopo, i suoi giovani collaboratori fecero la stessa cosa a lui: se ne andarono per aprire un nuovo laboratorio vicino a New York; era la restituzione di ciò che egli stesso aveva fatto a Luria. Tutti sono egoisti.

Prendiamo un altro esempio, quello di un grande benefattore dell'umanità: il dottor Jonas E. Salk, che sviluppò il primo efficace vaccino contro la poliomielite quando la malattia straripava, devastando gli Stati Uniti e il resto del mondo, e, come risultato, diventò un eroe. Perché lo fece? La sua esperienza nel campo dei vaccini contro i virus gli diede i mezzi per farlo; ma la vera ragione è diversa. La malattia stava suscitando un'attenzione enorme nel pubblico, quindi debellarla poteva significare la fama; e, in aggiunta, Salk voleva fare il vaccino in un modo non ortodosso, in contrasto con quel che si credeva a quel tempo, proprio per dimostrare che lo poteva fare. Questa differenza lo mise in conflitto perpetuo con Albert Sabin, che produsse un vaccino basato su un indirizzo più convenzionale; anch'esso fu efficace e, anzi, più tardi diventò il vaccino definitivo nella maggioranza dei paesi. Il conflitto fu il risultato dell'attitudine egoistica di entrambi, più che di fatti concreti. E quando cominciò l'epidemia di AIDS, Salk cercò di fare un vaccino basato sul principio che aveva seguito per la poliomielite, forse per dimostrare ancora che aveva ragione, ma invano. Infatti nessun vaccino contro il virus HIV, che produce l'AIDS, ha finora avuto successo: l'HIV è infatti molto diverso dal virus della poliomielite. Ma per molto tempo né Salk né gli altri ricercatori nel campo dei vaccini lo capirono: i loro tentativi erano motivati dal desiderio di gloria, e in qualche caso di denaro; ragioni egoistiche.

L'aspetto egoistico del comportamento dei due scienziati lo si può osservare in altri modi. Talvolta, in qualche meeting, Salk veniva circondato, con suo grande piacere, da una folla di ammiratori, che applaudivano al suo lavoro. Ma qualche volta qualcuno diceva: «Dottor Salk, non dimenticherò mai la sua zolletta di zucchero». Naturalmente, questo era un errore perché faceva riferimento al vaccino Sabin, che è dato

in zollette di zucchero. Salk ingoiava il rospo, un po' imbarazzato, e sorrideva, ma non diceva niente. C'era una ferita nella sua anima. Lo stesso avvenne la volta in cui Sabin partecipò a un meeting, credo a Genova, e qualche grosso personaggio andò a salutarlo dicendo: «Dottor Salk, non potrò mai dimenticare ciò che lei ha fatto per l'umanità». Reazione: come sopra.

Se guardiamo ad altri grandi benefattori, come Albert Schweitzer o Madre Teresa di Calcutta, che spesero le loro vite nella cura di ammalati, dobbiamo dare la stessa risposta: egoismo, fama. Rischiare la propria vita è parte del gioco, perché fa diventare le proprie azioni più brillanti. E allora: che cosa spinge un artista? Il desiderio di fare ciò che non era mai stato fatto prima, attirando così l'attenzione dei critici, delle gallerie d'arte, dei collezionisti e, finalmente, del gran pubblico. La nostra società è dominata dai divi, divi egoisti. In tutti i casi l'egoismo dei divi è proiettato su tutta la società; i divi sono felici dell'attenzione del pubblico, e il pubblico a sua volta è felice di partecipare alla gloria del divo, stringendogli la mano e chiedendogli autografi o fotografie: come la zolletta di zucchero.

Lo stesso principio è alla base di altre sfere di attività umana. I tremendi scandali che, qualche anno fa, hanno scosso il mondo politico in Italia sono un'espressione della illimitata fiducia dei politici in se stessi, nei loro alleati e complici, associata a un rifiuto categorico di accettare idee provenienti da altre persone. Essi trascurano il rispetto delle leggi che essi stessi hanno varato, a cui non attribuiscono alcun valore, eccetto quando è a loro beneficio. Questa sembra essere un'attitudine esistente in Italia a tutti i livelli della società. Quasi dappertutto le norme sul traffico sono ignorate; in tutte le città giovani in motorino fanno tutto ciò che loro piace, attraversando incroci con il semaforo rosso, o andando contromano nei sensi unici. Parcheggiare, quello sì che è un vero inferno. Sotto un cartello di rimozione forzata ci sono file di auto con due ruote sul marciapiede, che occupano per una buona metà. Forse un'auto è considerata parcheggiata se ha tutte e quattro le ruote sulla strada; se ne ha solo due, le altre due essendo sul marciapiede, non sta parcheggiando. Se però un'auto venisse portata via per questa violazione, il proprietario ne sarebbe oltraggiato: perché a me? Questo è il motivo ricorrente: a me, a me, a me.

L'egoismo esiste in ogni parte del mondo, a ogni livello: perché il presidente francese Jacques Chirac avrebbe ripreso, alcuni anni fa, le esplosioni di bombe nucleari? A quell'epoca le proteste di tutto il mondo sembravano aver avuto un solo effetto: rinforzare la sua decisione di

andare avanti. Quelle manifestazioni devono aver rinvigorito il suo ego, rivelando un grado di egoismo che si spererebbe di non vedere mai in un'importante figura pubblica. Ma se si guarda indietro nella storia di molti capi di stato e nelle loro decisioni di spingere il loro paese in guerra, si riconoscono degli atteggiamenti simili. Certo, nemmeno il Winston Churchill dell'Inghilterra era una pecorella. Eppure poi divennero tutti eroi nei loro paesi. L'egoismo è il motore della società umana, nonché la forza principale nella sua evoluzione.

La violenza

Ci si può chiedere se c'è una relazione tra geni egoisti e criminalità. Si potrebbe pensare che la criminalità sia attributo di un gruppo speciale di individui, che la maggior parte di noi non abbia alcuna attitudine criminale. Ma su questo punto si può discutere. È vero che la maggioranza delle persone, in circostanze normali, non provocherebbe danni fisici ad altri; però lo farebbe in circostanze speciali. I soldati in una guerra non esitano a uccidere i nemici, e gli amanti traditi qualche volta uccidono la loro donna. Perciò anche quelle che chiamiamo persone normali hanno latente nella loro anima il potenziale di uccidere, o di infliggere danni di vario tipo - fisico, psicologico, economico - ai loro nemici. Un assassino si nasconde nel fondo di molte anime, per lo più senza esser mai rivelato, per poi diventare vivo e attivo quando le circostanze lo richiedono.

La tendenza alla violenza deve risiedere nei geni, perché è caratteristica di tutta la specie umana, e anche di molti animali. La si vede facilmente negli incontri tra gatti e topi, in cui i gatti usano una crudeltà così raffinata, che la si penserebbe possibile tra gli uomini, ma non tra animali. Tra gli animali spesso la violenza viene usata in difesa dei diritti territoriali. Un gatto solitario si muove, circospetto, in un grande cortile con al centro una palma dai grandi rami che si dipartono dal tronco, per poi piegarsi orizzontalmente, fin quasi toccare terra. Improvvisamente un cane, che è il padrone del posto, arriva correndo e abbaiando. Il gatto salta sull'albero e si arrampica su un ramo, ma quando questo si flette verso terra lui scivola e cade. Prima che il gatto tocchi terra, il cane è su di lui, gli afferra la testa tra le ganasce e scuote violentemente il corpo sul terreno in varie direzioni, finché rompe il collo del nemico; allora si allontana trotterellando con leggerezza, forse molto contento, lasciandosi dietro il corpo immobile.

Le rivalità tra animali della stessa specie possono anche essere crudeli. La disputa tra un gatto giovane che vuole occupare il territorio di un gatto anziano è piena di tensione e pericolo. Il gatto anziano è seduto nel mezzo del suo territorio, e il gatto giovane si avvicina lentamente, ma senza esitazioni. Poi si sdraia sul terreno di fronte al vecchio gatto, ed essi si guardano per molto tempo. Allora il gatto giovane fa un piccolo passo avanti, e il vecchio non si muove. Sono di nuovo di fronte; quindi il gatto giovane fa ancora un piccolo passo, e il vecchio sta dov'è. E questo si ripete parecchie volte. Il gatto vecchio diventa sempre più terrorizzato e comincia a ritirarsi di qualche centimetro, senza distogliere lo sguardo dall'altro, e lentamente ripete lo stesso movimento parecchie volte. La sfida continua per un'oretta. Finalmente il gatto vecchio non può più sopportare la tensione, si volta e scappa. La sfida è finita, con gran sollievo dell'osservatore. I gatti fanno sempre così: è nei loro geni.

Controllo della violenza

Mentre molte persone commettono atti di violenza solo in circostanze speciali, altre lo fanno abitualmente. Se la violenza è inscritta nei geni umani, perché c'è questa differenza? Quello che capiamo del controllo del comportamento suggerisce il quadro seguente. Il comportamento è sotto un doppio controllo: uno di base da parte dei geni, e uno sovrapposto da parte di una razionalità basata sull'educazione. In differenti individui i due controlli possono essere molto diversi. Che ci siano differenze individuali a livello dell'attività dei geni non meraviglia, se pensiamo alle differenze che i geni determinano nelle caratteristiche fisiche delle persone. Che ci siano differenze a livello di razionalità è ovvio, perché l'esperienza, su cui si basa la razionalità, può essere enormemente diversa in individui differenti.

Quando una persona risponde a una situazione nuova, sembra probabile che il controllo di base intervenga immediatamente, causando una risposta che chiameremo «impulsiva». Il controllo razionale interviene dopo, e sviluppa una risposta più lenta. In alcuni casi, o in alcuni individui, il controllo razionale blocca la risposta impulsiva, rimpiazzandola con una differente; in altre situazioni permette alla risposta impulsiva di persistere, arrivando anche a rinforzarla. Quando una persona subisce da un'altra un'ingiustizia che la colpisce profondamente, la sua prima reazione può

essere: la uccido. In chi è cresciuto sotto l'istruzione: «Non uccidere», oppure sa che se uccide va a finire in prigione per molto tempo, o ha imparato a capire e anche a perdonare azioni meno che amichevoli da parte di altri, il controllo razionale blocca l'impulso e conduce a una risposta più mite. In persone che sono cresciute senza un'educazione di questo tipo, che hanno sentito qualche amico vantarsi di aver ucciso qualcuno che l'aveva offeso, che vedono il mondo fatto di amici intimi e nemici feroci, il controllo razionale può dire: «Va' avanti, se lo merita»; oppure può dire: «Va' avanti, ma fa' attenzione, fallo in un modo che non ricada su di te».

Nel cervello di molti individui i geni hanno creato una bestia, più o meno feroce, che rimane silente fino a quando è pronta a saltare e uccidere; è la bestia ereditata dalle creature più semplici attraverso innumerevoli stadi di evoluzione. Ma i geni hanno anche creato attraverso l'evoluzione i cervelli capaci di razionalità, che, se allenati, possono fermare la bestia; questi sono i geni che hanno scritto il principio: «Tu non ucciderai».

Qual è il futuro dell'umanità in queste circostanze? La bestia è lì, e nessuno può liberarsene. È cresciuta attraverso tanti stadi evolutivi in cui era la chiave per la sopravvivenza, ed è al sicuro. È l'espressione dell'egoismo dei geni. Potremo un giorno liberarcene con la manipolazione dei geni? Ci sono ostacoli formidabili contro tentativi di questo tipo: la bestia non è il risultato dell'azione di un solo gene, ma molto probabilmente di parecchi. In primo luogo non si può prevedere che saranno identificati e, anche se lo fossero, non c'è speranza che una manipolazione genica li elimini. L'umanità deve vivere con la bestia.

La sola speranza per una riduzione della violenza a qualunque livello (individuale o di gruppo) è il controllo razionale del comportamento attraverso l'educazione. Ma che cosa è l'educazione? Nel mondo presente tutti, o la maggioranza di coloro che commettono atti di violenza (non solo fisica, ma anche economica o psicologica) sono educati adeguatamente, o anche meglio. A scuola hanno sentito parlare dei princìpi della moralità, ma forse a casa e tra gli amici hanno assistito alla derisione di questi princìpi. Questo è perché non tutti i tipi di educazione forgiano la mente dei giovani. Quella che lo fa di più è l'educazione che genitori attenti e non troppo occupati possono dare ai loro figli, oppure quella che una religione può dare a coloro che vi credono. Oggi è difficile raggiungere tale scopo, almeno nelle società più sviluppate: la gente è troppo occupata, non ha tempo per i suoi bambini; la fiducia nelle religioni vacilla perché sono

basate sul sovrannaturale e la scienza ne ha scosso le fondamenta.

In aggiunta, l'educazione non è una via a senso unico: quelli che non vogliono essere educati non possono esserlo. L'educazione deve soddisfare qualche bisogno egoistico dell'individuo, come un miglioramento della vita o la partecipazione a un ordine morale, una religione, ma allora è spesso in conflitto con altri ordini morali o religioni.

L'educazione può anche essere forzata, come avviene nei regimi totalitari; allora l'egoismo e la violenza sono esercitati solo da coloro che detengono il controllo. L'educazione attraverso la paura può essere molto efficace, ma è limitata a un paese, di solito in conflitto con altri, il che sembra essere una condizione quasi necessaria per la persistenza dei regimi dittatoriali. In queste situazioni la violenza individuale diminuisce, ma quella su larga scala, a livello statale, viene molto aumentata.

Un forte ostacolo all'eliminazione della violenza è l'instabilità della specie umana a causa della grande varietà delle idee e delle loro complesse interazioni, cioè lo stato caotico. Tale instabilità può rendere possibile l'istaurarsi di una situazione opposta alla riduzione di violenza, cioè lo sviluppo di culti violenti basati su postulati filosofici, razzisti, o religiosi. Ci sono sintomi di tale tendenza in tutto il mondo, per esempio in forma di terrorismo per rinforzare ideologie politiche o religiose. Coloro che perpetrano tali atti criminali li vedono come forme perfettamente legittime di una guerra di indipendenza, una vera espressione del loro egoismo innato.

È estremamente difficile realizzare il sogno di un mondo senza violenza, come non è possibile pensare a un mondo senza terremoti. L'ostacolo maggiore sono i nostri geni. Però è chiaro che la violenza può essere ridotta, com'è dimostrato, almeno a livello nazionale, dai lunghi periodi di pace goduti negli ultimi cinquant'anni da molti paesi. Questo è il prevalere del cervello razionale. Un contributo notevole è stato il diffondersi di governi democratici, che sostituiscono le decisioni individuali di un dittatore con una decisione collettiva; ciò riduce di molto il valore dei capricci individuali derivanti dai geni o dall'educazione.

Una continuazione in questa direzione è una delle migliori speranze per il mondo e la specie umana: è un risultato che con il tempo sarà raggiungibile. Ma ci sono notevoli difficoltà, come è stato dimostrato, per esempio, dai problemi incontrati durante lo sviluppo dell'Unione Europea. Un ostacolo serio in quella direzione sarà la diminuzione di energia a buon mercato, che abbasserà notevolmente lo standard di vita nelle nazioni più

ricche. I risultati non possono essere previsti, dato lo stato caotico della società umana. Si possono intravedere diverse tendenze di sviluppo: una riduzione equilibrata, ragionevole, degli standard di vita che mantenga un po' di equità, almeno nella maggior parte della popolazione; uno stato quasi religioso, guidato da un capo ispiratore; una situazione simile a quella di parecchi paesi africani, con frammentazione estrema e conflitti continui. E forse ciascuna di queste soluzioni, e altre ancora, verranno adottate da gruppi differenti in diverse parti del mondo. Il pericolo di conflitti tra paesi potrà aumentare, sia per ragioni pratiche - competizione per le fonti residue di energia - sia per ragioni ideologiche. Una cosa molto importante per il destino dell'umanità sarà il modo in cui si userà l'informazione. La tendenza attuale, in cui l'informazione acquista sempre maggiore importanza attraverso le sue molteplici forme, non diminuirà: ci sarà sempre abbastanza energia per diffondere l'informazione. L'elemento cruciale è chi sarà al controllo e come, se per il bene comune o per interessi di parte.

L'aumento della conoscenza di noi stessi fornito da studi in molte aree non sarà sufficiente a creare un mondo ideale. Ma tale conoscenza potrà mostrare le scelte possibili e le loro conseguenze. Essa sarà aggiunta all'insieme delle conoscenze accumulate attraverso i secoli della storia recente per guidare le decisioni del cervello razionale, che è la sola arma a disposizione per controllare la bestia che si nasconde dentro di noi.

Geni e malattie

Le malattie genetiche

I geni responsabili

Nella specie umana esistono circa 40.000 geni ed è facile immaginare che, durante la loro riproduzione, in alcuni di essi si producano degli errori che provocano malattie. Infatti i testi di medicina contengono informazioni su circa 4000 malattie definite «ereditarie», cioè che ricorrono nelle famiglie, dovute a geni alterati. Il loro è un catalogo di sofferenze umane, il che spiega gli sforzi fatti per eliminarle attraverso la prevenzione o la terapia. Singolarmente si tratta di malattie rare; ma, siccome ce ne sono molte, il loro peso complessivo sulla società umana è notevole. Molte delle malattie causano la morte in giovane età: questo è il caso, per esempio, di immunodeficienze congenite, perché il neonato che ne soffre è senza difesa contro batteri o virus e muore entro pochi mesi, ucciso da qualche infezione che sarebbe trascurabile in un bambino normale. Senza speranza è anche il destino di bambini con la «malattia di Tay-Sachs», che accumulano sostanze grasse nei loro cervelli, e vanno incontro a un deterioramento mentale progressivo, diventando ciechi e peggiorando gradualmente, finché muoiono entro il primo o il secondo decennio dopo la nascita. Ancora più tragico è il destino di giovani maschi colpiti dalla «malattia di Lesh-Nyan» (che risparmia le femmine, come spiegheremo più avanti), che hanno una grave deficienza mentale: tendono a mangiarsi le dita o altre parti del corpo e, se ne sono impediti, mangiano le loro labbra e la loro lingua; anch'essi muoiono giovani.

Nel passato, per individuare il gene responsabile di una malattia ereditaria si usava il metodo delle mappe, che associava il gene con qualche caratteristica ben localizzata nel genoma, come alcuni dei suoi tanti microsatelliti. Per fare ciò si studiavano famiglie in cui c'erano membri affetti dalla malattia e membri sani; si esaminava il loro DNA per vedere se qualcuno dei microsatelliti fosse regolarmente presente nei malati ma non nei sani. Se si trovava, la localizzazione dei microsatelliti indicava la regione del genoma dove c'era il gene; allora quell'area veniva

esaminata in dettaglio per scoprire un gene che avesse qualche alterazione negli individui malati e non in quelli sani; quello era il gene ricercato.

Questo metodo è stato molto utile, ma non funziona per tutti i geni, perché talvolta non ha una risoluzione sufficiente. Recentemente, a questo metodo si sono aggiunte altre procedure, favorite dai risultati ottenuti studiando l'attività dei geni con i *microarrays.* Un esempio è l'identificazione di un gene per una malattia ereditaria in cui non c'è produzione di lipoproteine ad alta densità, quelle che contengono il «colesterolo buono». Il gene fu mappato sul cromosoma 9, però non si riuscì a identificarlo. Venne allora ricercato in un altro modo, approfittando del fatto che le cellule degli individui affetti non sono capaci di immettere il colesterolo nelle lipoproteine in formazione. Pensando che questa deficienza fosse dovuta alla mancanza del gene ricercato, si determinò il grado di espressione dei geni presenti in cellule derivate da individui affetti. Lo studio dei *microarrays* dimostrò che tra 58.000 geni esaminati (molti dei quali erano duplicazioni), 160 erano considerevolmente meno attivi negli individui malati che nei sani. Tra questi 160 geni si identificò il gene responsabile della malattia in base alla sua localizzazione nella regione individuata dalle mappe. La modificazione di attività degli altri 159 era presumibilmente secondaria al difetto di questo gene.

Molto utili possono essere anche modelli di malattia in animali, quando esistono, perché in essi è più facile identificare il gene responsabile che non nell'uomo. Un esempio è l'individuazione di un gene per l'ipertensione con tendenza all'ictus, che fu prima riconosciuto nei ratti con la malattia, e poi nell'uomo, per la sua somiglianza al gene del ratto.

Una malattia ereditaria si manifesta quando la funzione di uno o più geni è carente, cioè quando le proteine corrispondenti non sono prodotte o, se lo sono, non funzionano correttamente. In ogni caso queste proteine hanno normalmente funzioni con ruolo predominante su un'importante attività del corpo o della mente. L'alterazione del gene principalmente responsabile può avvenire in molti punti, per cui l'identificazione di tutte le alterazioni è difficile; per la stessa ragione, è problematico determinare se in un individuo quel gene è normale o no. Queste difficoltà sono ora molto ridotte dalla determinazione delle sequenze del DNA ottenuta con il Progetto Genoma. Le più facili da identificare sono situazioni in cui una proteina non viene prodotta, di solito per cambiamenti nella regione di controllo del gene; ma ciò non è frequente. Più diffusi, e anche facili da

identificare, sono i cambiamenti che causano la formazione di un segnale di arresto anomalo durante la produzione della proteina, che perciò rimane corta e generalmente priva di attività. Cambiamenti che causano la sostituzione di un amminoacido con un altro sono i più frequenti e possono avvenire in molti punti; la loro individuazione è difficile perché i siti possibili sono numerosi. La sostituzione può avere effetti diversi, a seconda della natura dell'amminoacido: se quello posto in sostituzione ha le stesse caratteristiche generali di quello normale, l'effetto è piccolo o anche trascurabile; se le differenze sono più profonde, la proteina può acquistare una forma tridimensionale anomala ed essere inattiva. Questo, per esempio, succede nell'anemia falciforme, in cui la sostituzione di un solo amminoacido su 300 causa una profonda deformazione della proteina beta-globina, che è presente nei globuli rossi del sangue, e ne danneggia gravemente la funzione, per cui il trasporto dell'ossigeno nel sangue è molto ridotto.

Le malattie ereditarie possono avere caratteristiche molto diverse nei vari pazienti, specialmente in circostanze speciali. Ecco alcuni esempi. Esiste un gene la cui alterazione dà luogo a un'anemia soltanto se l'individuo mangia delle fave, in caso contrario non ha alcun effetto. Molti individui sviluppano cancri se vengono esposti a certe sostanze chimiche, come quelle presenti nel fumo del tabacco, perché da esse producono dei derivati che danneggiano il DNA; ma c'è grande variabilità in individui diversi. Il risultato dipende dallo stato del gene la cui proteina agisce sulle sostanze tossiche: se è poco attivo, gli effetti dannosi sono ridotti. Alcune malattie genetiche hanno un'altra caratteristica sorprendente: si presentano tardi nella vita. Per esempio gli individui affetti dalla «corea di Huntington» cominciano a mostrare i sintomi caratteristici (movimenti involontari, degenerazione mentale progressiva) a quaranta o cinquanta anni, ma fino a quell'età sono perfettamente normali.

Malattie monogeniche e poligeniche

Per quanto riguarda l'origine delle malattie, alcune si comportano clinicamente come se fossero causate dall'alterazione di un solo gene. Tutte le malattie già citate (le immunodeficienze, la corea di Huntington, la malattia di Tay-Sachs, quella di Lesh-Nyan e l'anemia falciforme), appartengono a tale categoria. Ma questa è solo un'approssimazione,

perché i geni non sono unità indipendenti, bensì formano una rete funzionale con molte interazioni. Questo è risultato dal Progetto Genoma, che ha individuato i geni e ha permesso lo sviluppo di metodi estremamente efficienti, quali i *microarrays,* per misurare la loro risposta a varie condizioni. Tali metodi, in associazione con metodi matematici per analizzare i risultati ottenuti, hanno dimostrato che non c'è situazione in cui la risposta a una condizione speciale sia limitata a un solo gene; cambiano attività sempre molti geni, spesso migliaia. Ciò si può spiegare nel modo seguente: la variazione di attività di un gene causa cambiamenti della concentrazione della sua proteina nella cellula, ed essa produce i suoi effetti attraverso la produzione di sostanze chimiche o l'interazione con altre proteine. Le modificazioni che ne risultano a loro volta si riflettono sull'attività di altri geni, e così via. Che i geni formino una rete di interazioni è inevitabile, perché le loro proteine non sono chiuse in compartimenti separati, ma sono mescolate con molte altre proteine con cui sono in stretto contatto. Nascono perciò molte interazioni, di forza diversa; quelle più forti sono quelle meglio conosciute, mentre le più deboli sono difficili da identificare. Ma queste deboli interazioni, che sono in numero molto elevato, hanno effetti diffusi e causano la partecipazione di molti geni a vari cambiamenti.

È perciò appropriato considerare ogni malattia come il prodotto di più geni, che hanno ruoli differenti in malattie diverse. Un esempio semplice è dato dalla varietà dei sintomi presenti nei pazienti affetti da anemia falciforme, in cui l'alterazione del gene della beta-globina causa deficienza di trasporto di ossigeno attraverso il corpo. Alcuni di loro muoiono da bambini, ma altri vivono a lungo, conducendo una vita pressoché normale. Queste differenze sono causate dall'azione di un altro gene, che produce una globina un po' diversa, normalmente presente solo durante la vita fetale; invece in alcuni casi essa continua a essere prodotta dopo la nascita. Se questo avviene in un paziente con anemia falciforme, il trasporto di ossigeno continua a ritmo pressoché normale dopo la nascita, e i sintomi della malattia sono fortemente ridotti.

Nei casi che abbiamo discusso l'effetto di un gene è molto evidente, cosicché tali patologie vengono chiamate «malattie monogeniche», come se fossero prodotte da un gene solo. In realtà questa è un'approssimazione. Possiamo visualizzare queste malattie nel modo seguente. Se abbiamo una catena di reazioni chimiche che portano a un prodotto essenziale per l'organismo, ogni interruzione della catena impedirà la produzione della

sostanza, perciò l'effetto appare come monogenico. Per esempio, nella coagulazione del sangue, un fenomeno essenziale per la vita, c'è una catena di reazioni che include molti fattori; essi agiscono uno dopo l'altro. La mancanza di un fattore blocca la coagulazione, generando una malattia ben definita: l'emofilia (difetto della coagulazione del sangue che predispone a emorragie gravi e disturbi articolari molto forti) nei suoi diversi tipi, in relazione al fattore mancante. Ma l'arresto della reazione ha molte altre ripercussioni che passano in secondo piano dal punto di vista clinico, e perciò di solito vengono completamente trascurate.

Malattie di questo tipo sono solo il 2% di tutte quelle genetiche. Le altre sono «poligeniche», e coinvolgono in modo evidente più di un gene. Questo può avvenire in due modi diversi.

Alcune malattie, come il diabete insulino-dipendente, sono dovute all'azione concorrente di parecchi geni, che devono essere tutti alterati; lo stesso vale per altre malattie, tra cui la schizofrenia e l'ipertensione. Il numero dei geni che partecipano a una di queste malattie è probabilmente molto più grande di quel che si pensi; solo i geni con più forte influenza sulla malattia verranno ricercati e scoperti. L'identificazione dei geni più direttamente responsabili di queste malattie è stata nel passato estremamente difficile, ma ora i risultati del Progetto Genoma aprono nuove possibilità.

Altre malattie poligeniche sono causate da alterazioni di parecchi geni, che però agiscono indipendentemente, perché ciascuno è necessario per produrre una componente di un certo sistema; perciò l'alterazione di un solo gene produce la malattia. Un esempio è la «retinite pigmentosa» che causa difetti nell'occhio e può essere provocata dall'alterazione di circa 30 geni, ciascuno indipendentemente dagli altri.

In molte malattie poligeniche c'è poi una forte influenza dell'ambiente, il che indica la partecipazione di molti altri geni, quelli su cui l'ambiente esercita un'influenza spiccata. Quest'influenza può essere molto profonda e varia. Un esempio sono le malattie «autoimmuni», in cui il sistema immunitario dell'organismo, che ha il compito di difenderlo da agenti estranei come virus e batteri, attacca le cellule dell'organismo stesso. L'ambiente collabora nel determinare malattie come l'asma o l'artrite reumatoide, in cui c'è anche una partecipazione di geni. In alcune di queste patologie l'ambiente contribuisce causando l'entrata nel corpo di virus o parassiti che contengono proteine simili a quelle presenti nel corpo: allora si sviluppa una risposta immunitaria diretta a entrambe le proteine,

causando danni che diventano patologici. L'effetto dell'ambiente si riconosce anche in altre malattie, come per esempio il diabete dell'adulto, che negli Stati Uniti è aumentato del 40% tra il 1990 e il 1999, evidentemente per cambiamenti ambientali, sebbene i meccanismi non siano certi.

Nelle malattie monogeniche tali influenze sono meno evidenti perché i loro effetti sono nascosti dall'azione prevalente del gene principale. Infatti in tutte la malattie partecipano molti geni, ma c'è una distribuzione: alcuni hanno un ruolo più visibile, altri meno. Nel passato ci si concentrava su quelli più visibili; ma per capire il quadro generale bisogna considerarli tutti.

Vari sintomi dello stesso gene

Ora ci possiamo domandare: tutte le alterazioni in un gene causano la stessa malattia? Fino a poco tempo fa si pensava che la risposta fosse affermativa, indipendentemente dalla localizzazione dell'alterazione nel gene; ora, invece, come risultato del grande progresso fatto nello studio dei geni e del genoma, è chiaro che ciò non è sempre vero. Il gene non è semplicemente un interruttore che apre o chiude un certo programma; è un interruttore complesso, molto sofisticato, che controlla le diverse parti del programma con notevole indipendenza l'una dall'altra.

Un esempio si trova in due forme di difetti di coagulazione del sangue, che sono molto diversi perché uno è accompagnato da un'immunodeficienza piuttosto grave, mentre l'altro ne è privo. Le due malattie originariamente venivano attribuite a due geni separati ma contigui; invece recentemente è stato provato che entrambe originano dallo stesso gene. La differenza dipende dal tipo di cambiamento che l'alterazione del gene produce nella sua proteina: l'alterazione di un singolo amminoacido causa l'una o l'altra malattia, a seconda dell'amminoacido che lo sostituisce. Nella malattia senza immunodeficienza l'amminoacido originario e quello sostitutivo, sebbene differenti, hanno proprietà simili, per cui la funzione della proteina rimane parzialmente conservata, mentre nella malattia accompagnata da immunodeficienza l'amminoacido originale è sostituito da uno che ha proprietà molto diverse, causando una profonda distorsione della proteina e perdita di funzione.

Effetti ancora più drammatici sono prodotti da un gene la cui alterazione

può dar luogo a tre quadri completamente diversi: tumori della tiroide, tumori della ghiandola surrenale oppure megacolon, cioè una distensione enorme del colon, che è una parte dell'intestino, dovuta alla mancanza di certe cellule nervose nelle sue pareti. Effetti così diversi sono spiegati dai ruoli multipli della proteina prodotta dal gene, che è formata da tre braccia con funzioni distinte. Un braccio trasmette segnali che controllano le cellule della tiroide, un altro fa lo stesso per le cellule della ghiandola surrenale, e il terzo guida le cellule nervose durante la loro migrazione nel colon. Il tipo di malattia presente nei vari casi dipende dal braccio che è alterato. Tutti e tre i tipi di cellule colpite dalle mutazioni genetiche derivano da uno stesso precursore durante lo sviluppo embrionale, e migrano verso obbiettivi diversi; questo spiega perché le cellule colpite sono in posizioni così diverse nell'organismo.

Questi due esempi dimostrano che cambiamenti in un gene possono dare origine a quadri clinici molto diversi, a seconda delle funzioni delle diverse braccia delle proteine. Così nel primo caso un'alterazione nella stessa posizione può dar luogo a due malattie diverse, a seconda del tipo di cambiamento. Nel secondo caso, invece, la proteina usa le sue varie braccia con una certa indipendenza, e ciascuno dà origine a una malattia a sé stante quando è alterato. La ragione della diversità si deve trovare nella diversa organizzazione delle due proteine, che dipende dalla loro struttura tridimensionale. Il ruolo dell'organizzazione di una proteina in relazione alla sua funzione è oggi un soggetto di grande interesse, ma non è ancora chiaramente determinato, per la notevole difficoltà nel definire la struttura tridimensionale delle proteine. Questo è un tema importante per il futuro.

Un terzo esempio di effetti multipli dell'alterazione dello stesso gene è dato da una malattia ereditaria caratterizzata da due sintomi che sembrerebbero completamente sconnessi: mancanza di olfatto e deficienza sessuale. La scoperta del gene responsabile e il suo studio hanno chiarito la situazione: la sua proteina è necessaria durante lo sviluppo del cervello per guidare la migrazione di cellule nervose dalla regione del cervello dove è situato il centro dell'olfatto a una regione più profonda, dove più tardi esse devono produrre un ormone essenziale per lo sviluppo sessuale. L'alterazione del gene blocca la migrazione, sconvolgendo lo sviluppo sia del centro olfattivo sia di quello dello sviluppo sessuale. Questo mostra quanto sia importante, nella produzione della malattia, la località dove il gene esercita la sua funzione.

Ereditarietà delle malattie

I difetti dei geni non hanno tutti lo stesso effetto sull'organismo, perché la relazione tra l'alterazione e la malattia dipende dal ruolo del gene, dal cromosoma in cui si trova e dal periodo nello sviluppo dell'organismo in cui la sua azione è necessaria. Per l'ereditarietà delle malattie il cromosoma in cui il gene alterato è localizzato è importante, perché non tutti i cromosomi sono rappresentati nelle cellule dallo stesso numero di copie. La maggior parte dei cromosomi, e i geni che contengono, sono presenti in due copie, derivanti una dal padre, l'altra dalla madre; ma del cromosoma X le femmine hanno due copie mentre i maschi ne hanno solo una (derivata dalla madre). Anche del cromosoma Y è presente una sola copia (derivata dal padre) nei maschi; comunque questo cromosoma ha pochi geni, quindi poche malattie vi sono state associate. Per geni presenti in due copie, se una di esse è alterata, di solito non si hanno conseguenze perché le due copie di un gene presenti in una cellula fanno la stessa proteina, e ciascuna ne fa una quantità sufficiente per i bisogni totali della cellula. In contrasto, l'alterazione di un gene presente in copia singola, come quelli presenti sul cromosoma X nei maschi, è causa di malattia perché non c'è altra sorgente della proteina. I maschi sono perciò molto più vulnerabili delle femmine sotto questo aspetto: molte malattie ereditarie sono infatti essenzialmente maschili.

La trasmissione delle malattie ereditarie è abbastanza chiara nel caso di quelle «monogeniche», cioè causate principalmente dall'alterazione di un solo gene, di cui abbiamo già visto alcuni esempi. Quando è alterato un solo gene di un paio, e l'individuo affetto non è ammalato, esso è definito come «portatore». Le malattie di questo tipo, che si manifestano solo quando entrambe le copie di un gene sono alterate, sono chiamate «recessive», indicando che il gene alterato recede, cioè passa in secondo piano rispetto al gene normale, che domina la situazione. Essenzialmente ogni individuo su questa Terra è portatore di qualche gene alterato; il numero medio per ogni individuo si crede sia tra 4 e 6. Come vedremo, la situazione è diversa per geni situati sul cromosoma X.

Malattie prodotte da questi geni si manifestano solo in individui generati dall'accoppiamento di due portatori dello stesso gene alterato; in media, uno su quattro dei figli generati da tale accoppiamento svilupperà la malattia. Questo è un avvenimento abbastanza raro perché, sebbene ogni

persona abbia parecchi geni alterati, il loro numero totale è di parecchie migliaia, perciò la probabilità che due individui, scelti a caso, siano portatori dello stesso gene alterato è abbastanza piccola. Per esempio, per la fibrosi cistica, che è una malattia relativamente comune, si conta un bambino ammalato ogni 2500 nascite. I portatori dello stesso gene sono invece molto più frequenti, circa uno su 25 individui. Questi due numeri sembrano troppo diversi, ma un semplice calcolo dimostra la loro connessione. Infatti la probabilità che due portatori si accoppino a caso è 1/25 x 1/25 = 1/625; la probabilità che nasca un bambino ammalato è 1/4; perciò la probabilità della nascita di un bambino ammalato è 1/625 x 1/4 = 1/2500 tra tutte le nascite.

La frequenza della malattia può essere molto più alta in due situazioni che aumentano la probabilità dell'accoppiamento di due portatori. Una è il matrimonio tra consanguinei, per cui entrambi i partner possono essere portatori dello stesso gene alterato ereditato da un antenato comune; il rischio è di 1/16 nei matrimoni tra cugini e 1/64 per matrimoni tra secondi cugini; quindi il rischio di avere un figlio con la malattia è di 1/64 e 1/256, rispettivamente. L'altra situazione è un accoppiamento di due persone che appartengono a una popolazione in cui, per ragioni storiche, la proporzione dei portatori di un gene patogeno è particolarmente alta. Questo è il caso degli abitanti di certe regioni mediterranee per la talassemia, e degli ebrei askenaziti per la malattia di Tay-Sachs.

Un caso particolare è il tipo di ereditarietà dei geni recessivi presenti sul cromosoma X. Essi sono trasmessi dalla madre che è portatrice, ma sana, e la malattia si manifesta solo nei maschi, che hanno un solo cromosoma X. Un caso famoso di malattia di questo tipo è quello del principe Alexej, l'ultimo membro della dinastia dei Romanov, gli zar russi, che era affetto da emofilia, un difetto della coagulazione del sangue. Il gene responsabile si fa risalire alla regina Vittoria, la monarca inglese che visse nella metà dell'Ottocento e lo trasmise attraverso una serie di discendenti femmine che non avevano alcun problema. Sembra che la malattia non fosse presente negli antenati della regina, indicando essa come origine. Nelle femmine la malattia si manifesta solo se entrambi i geni sono alterati.

Completamente diversa è l'ereditarietà di un'altra classe di malattie monogeniche, quelle chiamate «dominanti», in cui il gene patogeno causa la malattia anche in presenza della copia normale del gene. In questi casi il gene alterato non ha perduto la sua funzione, ma l'ha cambiata, e il cambiamento è la causa della malattia. Un esempio di questo tipo è quello

che avviene in un «oncogene», cioè un gene che può iniziare un cancro. Il gene normale corrispondente controlla un'attività che porta alla moltiplicazione cellulare, e normalmente è attivo solo quando la moltiplicazione deve avvenire. Una mutazione che libera il gene da tale controllo, rendendolo permanentemente attivo, causa una moltiplicazione sfrenata delle cellule, una delle caratteristiche delle cellule cancerose.

Alcuni geni provocano una malattia dominante con un altro meccanismo, quello della produzione di una proteina alterata che è inattiva, ma blocca l'azione della proteina normale. Un esempio di questo tipo è la corea di Huntington che, come già detto, ha anche la particolarità di un'insorgenza tardiva.

Indipendentemente dal meccanismo che le produce, le malattie dominanti hanno un'ereditarietà semplice: un figlio nato da una coppia in cui uno dei membri ha il gene per una malattia dominante ha una probabilità su due di sviluppare la malattia. Però accoppiamenti tra individui affetti da tali geni sono eccezionali perché le malattie sono gravi, per cui è molto raro osservarne la trasmissione. Una delle eccezioni è la corea di Huntington, a causa della sua manifestazione tardiva.

Questa caratteristica di tale malattia è dovuta a un'alterazione di tipo speciale, che fu rivelata dall'osservazione clinica in certi pazienti con alterazioni mentali di un altro tipo, di solito maschi. Se le cellule di questi individui vengono osservate al microscopio al momento della divisione, quando i cromosomi sono visibili, vi si riconosce una rottura in un punto ben definito del cromosoma X. Per questa ragione la malattia fu definita come «sindrome dell'X fragile». Anche l'ereditarietà è peculiare: in contrasto con malattie legate al cromosoma X, anche le femmine ne sono colpite, sebbene più raramente; e un'altra peculiarità è che in generazioni successive i sintomi peggiorano.

Questa situazione misteriosa fu chiarita dagli studi approfonditi del cromosoma X sotto l'iniziativa del Progetto Genoma. Si dimostrò che il punto di rottura del cromosoma X è prodotto dalla presenza di molte ripetizioni di una tripletta precisa: CGG. Anche individui normali hanno alcune ripetizioni della stessa tripletta, ma in piccolo numero, circa 30, mentre gli individui ammalati ne hanno sempre più di 200, talvolta persino 1000. Quando il numero è più alto di 30, esso tende ad aumentare nelle generazioni successive, producendo la malattia. Anche il peggioramento dei sintomi nelle generazioni successive è dovuto a un aumento progressivo del numero delle ripetizioni. L'insufficienza mentale dipende

dal fatto che viene messo a tacere un gene situato vicino al sito delle ripetizioni.

Dopo questa scoperta, una diecina di altre malattie furono riconosciute causate da un aumento del numero delle triplette. La corea di Huntington è tra esse, ma in un gruppo speciale, perché la sua tripletta ha una composizione diversa (CAG) e le ripetizioni avvengono nell'interno di un gene; perciò esse causano profonde alterazione nella proteina, alterandone la struttura e rendendola inattiva; per di più si formano complessi tra la proteina anomala e quella normale che sono essi pure inattivi, il che spiega la dominanza dei sintomi. Anche in questa malattia c'è una correlazione tra il numero delle ripetizioni e la gravita dei sintomi, che è ancora più drammatica, perché il numero delle triplette è direttamente correlato con l'età in cui la malattia si sviluppa. Perciò nelle famiglie in cui il gene della corea di Huntington è presente, non solo è possibile determinare se un neonato o un feto svilupperà la malattia, ma anche a quale età. Una possibilità terribile!

In contrasto con l'eredità di malattie monogeniche, che segue regole semplici, l'eredità di malattie multigeniche è molto complessa perché coinvolge l'alterazione di parecchi geni con ruoli spesso diversi.

L'origine delle mutazioni genetiche

Per spiegare l'origine delle alterazioni genetiche responsabili di malattie ci sono due possibilità. Una è che le modifiche presenti nei portatori originarono in qualche più o meno lontano antenato per poi essere trasmesse attraverso una successione di portatori sani; un'altra possibilità è che siano insorte durante lo sviluppo del portatore stesso. Solo raramente si può rintracciarne l'origine perché bisogna avere a disposizione un albero genealogico, come è il caso dell'emofilia del principe Alexej. La situazione è diversa nel caso di geni responsabili di malattie ereditarie dominanti; siccome molti di essi impediscono la riproduzione, l'alterazione del gene deve essere avvenuta in uno dei genitori del paziente. Un'eccezione, come già detto, è la corea di Huntington, perché la malattia inizia tardi e perciò permette la riproduzione. Infatti c'è un gruppo di questi malati dalle parti di un lago nel Venezuela, derivato da un comune antenato, un immigrato che vi si stabilì portando il gene con sé.

Un meccanismo speciale delle malattie genetiche consiste

nell'alterazione del numero di copie di un cromosoma, generalmente da due a tre: un fenomeno noto come «trisomia». Esso risulta da un'errata distribuzione dei cromosomi dopo la divisione di una cellula germinale, cosicché una delle cellule figlie riceve due copie, l'altra una; poi la cellula con due copie ne riceve una terza alla fecondazione. Malattie con questa origine sono attualmente conosciute solo per 7 cromosomi, e sono tutte gravi, perché l'eccesso di copie dei geni presenti sul cromosoma addizionale produce uno squilibrio genico notevole, tutti i malati hanno una grave deficienza mentale perché molti geni sono coinvolti nello sviluppo del sistema nervoso.

La malattia di questo tipo meglio conosciuta, nonché la più mite, è la «sindrome di Down», causata da trisomia parziale del cromosoma 21, uno dei più piccoli; la malattia è più frequente tra i figli di una madre di oltre trentacinque anni, forse perché a quell'età c'è maggiore probabilità di distribuzione anomala dei cromosomi durante la maturazione degli ovociti. I bambini colpiti hanno lineamenti ed espressioni caratteristiche, sono piuttosto piccoli e hanno un'insufficienza mentale che può variare moltissimo da un paziente all'altro, perché la parte trisomica del cromosoma varia da caso a caso. Questi soggetti sono simpatici, affettuosi, e molto meno turbolenti dei bambini normali, però rimangono infantili per tutta la vita. Questa situazione è causa di equivoco nei genitori, che accettano facilmente un bambino Down per il suo comportamento simpatico, ma non considerano il problema di un «bambino» di trenta o quarant'anni, incapace di aver cura di se stesso.

Il fatto che i sintomi dei pazienti Down siano meno gravi di quelli di pazienti con altre trisomie può attribuirsi alla circostanza che il cromosoma 21 è molto piccolo, e perciò non contiene molti geni. In aggiunta bisognerebbe considerare che tipi di geni sono coinvolti, e con quali funzioni; questo per ora non lo sappiamo. Non si conoscono trisomie per i cromosomi più grandi, che contengono molti geni; il loro squilibrio non permetterebbe la formazione di un embrione vitale. Un caso speciale è la trisomia del cromosoma X, che esiste solo nelle femmine: sebbene esso sia uno dei più grandi e contenga molti geni, le persone affette hanno uno sviluppo normale. Questo avviene perché nelle loro cellule due dei cromosomi X vengono inattivati dal normale processo di inattivazione del cromosoma X, e perciò esse sono normali, tranne che per alcune influenze sfavorevoli: per esempio, queste donne sono spesso sterili.

Prevenzione e terapia delle malattie genetiche

La prevenzione

Con la conoscenza completa del genoma umano, è ora possibile, con relativa facilità, riconoscere il gene responsabile di una malattia ereditaria monogenica. È perciò possibile stabilire se in una persona sana uno dei geni è alterato, cioè se quell'individuo è un portatore. Come già discusso, se questa persona si accoppia con un'altra che è anch'essa un portatore, c'è buona probabilità che ne nasca un figlio con entrambe le copie del gene alterate, e perciò ammalato. Di conseguenza un approccio alla prevenzione è individuare i portatori di un certo gene alterato, in modo che evitino di procreare assieme un figlio, che potrebbe essere ammalato. Questo non si può fare per tutte le malattie di questo tipo, perché ogni persona ha nel suo genoma parecchi geni modificati che possono essere patologici. Analizzare il genoma di tutta la popolazione per uno di questi geni non è praticamente possibile. Questa procedura viene applicata a popolazioni circoscritte in cui un gene di questo tipo è particolarmente abbondante. Due esempi sono: la talassemia in certe popolazioni mediterranee e la malattia di Tay-Sachs negli ebrei askenaziti. In queste popolazioni il riconoscimento dei portatori e le misure di prevenzione adottate hanno portato a una graduale riduzione dell'incidenza della malattia, il che è un vero grande successo.

Questo è il primo livello di prevenzione di queste malattie, il più importante, ed è accettato da tutti. Poi ci sono parecchi altri livelli che sono più controversi; essi interessano coppie in cui entrambe le persone sono portatrici dello stesso gene alterato, ma vogliono comunque avere un figlio. Se il gene alterato è conosciuto ed è identificabile con un esame del DNA, la coppia può usare queste conoscenze per evitare di avere un figlio con la malattia. La procedura usata è stata messa a punto qualche tempo fa, e si è dimostrata efficace. Ma essa è raramente usata per due ragioni: è costosa, perché richiede attrezzature speciali e personale molto ben addestrato; e non è accettata da tutti.

In questa procedura si usa la fecondazione in vitro con le cellule

germinali delle due persone, ottenendo un certo numero di uova fecondate. Queste si lasciano sviluppare per pochi giorni, fino a che hanno raggiunto lo stadio di 8-10 cellule, dopo di che da ciascuna di esse si prende una cellula (il che non danneggia l'ulteriore sviluppo dell'embrione) e vi si esaminano le due copie del gene in questione. Se entrambe sono alterate, l'embrione viene distrutto; alcuni embrioni in cui almeno una delle due copie del gene è normale vengono invece introdotti nell'utero della madre, opportunamente preparato; ci sono buone probabilità che almeno uno di essi raggiunga il termine, producendo un bambino sano.

La ragione per cui non tutti accettano la procedura è che, se si identificano embrioni in cui entrambe le copie del gene sono alterate, questi vengono distrutti. Come sarà discusso trattando delle cellule staminali, la loro distruzione non è accettata da alcune parti della società; e ci sono leggi che la proibiscono. Biologicamente questa posizione è sorprendente: piuttosto che sacrificare un cumulo amorfo di cellule indifferenziate, si sacrifica la vita di un individuo, che potrà essere un vero, lungo supplizio per l'ammalato e la sua famiglia. È orribile pensare, per esempio, a un bambino con la malattia di Lesh-Nyan, che per tutta la durata della sua breve vita vuole mangiare se stesso, le sue dita, le sue mani, che viene immobilizzato per non farglielo fare, e allora si mangia le labbra, la lingua. Non tutte le malattie ereditarie sono così crudeli, ma per la maggior parte sono un vero supplizio. Si dovrebbe considerare questo punto, e cercare di bilanciare i due effetti negativi, quello sull'embrione e quello sul malato. Si potrebbe almeno fare una lista delle malattie più pesanti, e permettere per esse l'uso della procedura, in modo da impedire la nascita di bambini gravemente ammalati.

C'è infine il caso più avanzato in cui la gravidanza è in atto e l'analisi del DNA dimostra che il feto è ammalato. Quel che si può fare dipende fondamentalmente dal tipo di alterazione. I casi più favorevoli sono quelli in cui la mutazione causa una malattia controllabile, come la fenilchetonuria, che viene tenuta sotto controllo da una dieta appropriata, o certe immunodeficienze congenite, i cui geni responsabili sono noti, e che possono essere curate con trapianti di midollo osseo o con la terapia genica. Per le malattie di questo ultimo tipo sono oggi possibili due tipi di prevenzione: uno è l'introduzione del gene normale corrispondente a quello ammalato nelle cellule del feto; l'altro tipo è la trasfusione nel feto di cellule del midollo osseo di un donatore normale, in modo che esse vi si possano stabilire, sostituendo quelle alterate. Questi tipi di terapia non

sono ora facilmente accessibili, ma certamente lo diventeranno sempre di più nei prossimi anni.

Nella maggioranza degli altri casi l'unico intervento possibile è l'interruzione della gravidanza. Qui la controversia e i problemi etici sono molto gravi, perché si deve decidere tra l'uccisione del feto e la nascita di un individuo che sarà fortemente menomato per tutta la vita.

La clonazione

Recentemente è stata proposta una nuova via per ottenere un bambino sano da due portatori dello stesso gene patogeno: la clonazione. Per il momento questa non è una possibilità pratica, ma potrebbe diventarlo con il tempo. Perciò vale la pena esaminarla. L'idea sarebbe di prelevare un nucleo (che contiene i geni) da una cellula del padre e inserirlo in un ovocita ottenuto dalla madre, dopo averne rimosso il nucleo. L'ovocita così ricostruito sarebbe poi immesso nell'utero preparato della madre, nella speranza di ottenere un bambino che sarebbe geneticamente identico al padre e perciò esente dalla temuta malattia.

Per valutare questa possibilità, cominciamo considerando che cosa significa clonare. La parola «clonazione» viene usata dai biologi da molto tempo. Essa descrive il processo per cui da un'unità (sia essa un gene, una cellula, un batterio o un animale) si ottengono copie identiche. Questa procedura fu messa a punto durante lo sviluppo dell'ingegneria genetica per produrre sufficienti quantità di un gene per la ricerca. Il gene viene inserito in una molecola di DNA capace di moltiplicarsi, e poi si introduce il complesso dei due DNA in batteri, da cui, dopo qualche tempo, si ottiene un ampio numero degli stessi complessi; da essi poi si isolano le copie del gene. La tecnica venne poi estesa ad altre unità, e divenne comune clonare cellule coltivate in vitro, oppure batteri o virus, per ottenerne delle colture pure. Poi si passò alla clonazione di animali, partendo da una cellula isolata da un embrione precoce, che, se immessa nell'utero di una femmina preparata, produce una progenie normale, definita un clone dell'animale donatore del nucleo. Questo diventò un metodo normale per ottenere dei bovini con caratteristiche desiderabili, suddividendo l'embrione allo stadio di una ventina di cellule e immettendo ciascuna di esse nell'utero di mucche preparate sino ad avere embrioni perfettamente normali.

Lo stadio successivo fu quello a cui oggi ci si riferisce quando si usa il

termine «clonazione», che è la formazione di un embrione introducendo un nucleo «somatico», cioè ottenuto da una cellula del corpo (per esempio della mammella, dell'ovaio o della pelle), in un ovocita privo del suo nucleo. Chiameremo questo tipo di clonazione «da trasferimento di nucleo somatico». Il primo tentativo fu fatto molti anni or sono su una rana e diede luogo alla formazione di girini, sebbene non a una rana adulta. La clonazione di mammiferi cominciò poco dopo, con un tentativo su un topo; venne riportato che la clonazione aveva avuto successo e aveva prodotto un topo normale. Però tentativi analoghi in molti altri laboratori non poterono confermare il risultato, che venne perciò considerato un errore oppure una menzogna, tanto che costò al ricercatore il suo impiego. Poi, alcuni anni fa, arrivò la pecora Dolly, e lì non ci fu alcun dubbio che fosse il risultato di una clonazione. Successivamente risultati positivi furono ottenuti anche con altri mammiferi, quali bovini, capre, topi e maiali.

Adesso qualcuno parla persino di clonare un essere umano. Questo è un problema molto serio che lascia tutti molto perplessi. Infatti il mondo è eccitato e preoccupato allo stesso tempo da dichiarazioni come quella fatta alcuni anni fa da un fisico americano: «Il primo bebé clonato verrà al mondo nei prossimi cinque anni». Sembra strano che un fisico abbia fatto tale dichiarazione; ma forse, come fisico, è uno degli scienziati più lontani dai problemi biologici ed etici coinvolti nella clonazione umana.

La biologia della clonazione

Prima di esaminare il valore della proposta fatta per ottenere un figlio sano da due portatori dello stesso gene patogeno, è utile esaminare ciò che si è imparato finora dalla clonazione di vari animali. Il punto più importante è che essa ha avuto un successo bassissimo. Nelle mucche non più dell'1% dei tentativi ha prodotto un animale che è sopravvissuto per lungo tempo; nei topi la situazione è un po' migliore, con un successo del 3%. Nelle scimmie, che sono gli animali più vicini all'uomo, non c'è stato alcun successo. La ragione di questi risultati così negativi non è chiara, ma ci sono degli indizi. Una delle osservazioni fatte ripetutamente è che in questa procedura c'è una notevole mortalità nel periodo embrionale o fetale, che sembra dovuta, in molti casi, a una malformazione della placenta, da cui dipende il rifornimento di ossigeno e nutrienti per l'embrione; dei pochi feti che sopravvivono fino alla nascita, molti

muoiono subito dopo a causa di problemi cardiaci o respiratori. I pochi bovini che sono sopravvissuti parecchio tempo spesso sono diventati obesi, e lo stesso è successo alla pecora Dolly; e nei sopravvissuti c'è tendenza a malformazioni dei reni o del cervello, oppure a insufficienze immunologiche. Alcuni hanno suggerito che questi problemi degli animali adulti fossero di origine genetica; ma non si è ottenuta alcuna prova al riguardo. Perciò le cause di tutti questi risultati estremamente sfavorevoli non sono ancora note.

Però si intravede una possibilità, considerando che cosa avviene durante lo sviluppo dell'organismo: dal momento della formazione dell'ovulo fecondato, ogni cellula riceve continuamente segnali dalle cellule circostanti in un ordine programmato. Il susseguirsi dei segnali provoca cambiamenti di attività nei geni seguendo il programma dello sviluppo presente nel genoma. Perciò il genoma di una cellula adulta ha uno spettro di geni attivi, mentre altri sono inattivi; e lo spettro dei geni attivi evolve in modo caratteristico durante lo sviluppo. Queste cellule sono ben diverse dalla cellula di origine, l'uovo fecondato, in cui i geni sono inattivi.

Durante tutto lo sviluppo non c'è alcuna indicazione che il suo cammino faccia marcia indietro, ritornando a stadi precedenti, quindi lo si potrebbe paragonare a un viaggio senza ritorno. La clonazione di animali annulla questo quadro, perché il nucleo della cellula mammaria utilizzata per clonare Dolly, trasferito nella cellula uovo, avrebbe dovuto aver raggiunto uno stadio irreversibile di differenziamento; invece il risultato dimostra che ciò non è vero: per generare un organismo completo esso deve ritornare allo stadio iniziale, in cui nessun gene è attivo. Com'è possibile? Questa domanda rende perplessi, perché un tale cammino a ritroso non è mai stato osservato in altre situazioni.

A pensarci bene, ciò che succede dopo il trasferimento del nucleo somatico all'ovulo non è del tutto sorprendente. Infatti sappiamo che lo spettro di attività dei geni, sotto controllo di molecole regolatrici, è intieramente reversibile, perché queste hanno vita limitata; quando una di esse è perduta, la sua azione sul gene cessa completamente. Un gene, per mantenere il suo stato di attività, ha bisogno di ricevere continuamente segnali da molecole regolataci. In aggiunta, nel genoma avvengono anche delle modificazioni chimiche (la metilazione di basi del DNA e modificazioni delle proteine che sono associate al DNA) che possono influenzare l'attività dei geni, e anche queste sono reversibili. Perciò possiamo capire come i geni possano perdere il loro stato di attivazione.

Infatti tale perdita si osserva regolarmente nel cromosoma X inattivo presente nelle femmine.

Anche durante lo sviluppo delle cellule germinali - l'ovocita e lo spermatozoo - c'è un progressivo silenziamento dei geni, cioè la «riprogrammazione» al termine della quale i geni sono inattivi. Questo è un fenomeno paragonabile alla formattazione di un dischetto in un computer, che cancella tutto ciò che vi era stato scritto così da rimetterlo in grado di ricevere nuove informazioni. Riguardo ai geni, il meccanismo sembra dovuto a modificazioni generali del DNA, quali la metilazione, oppure a modificazioni chimiche delle proteine che circondano il DNA nei cromosomi formando la cromatina, piuttosto che ad azioni sulle molecole regolatrici o sulla zona di controllo dei geni. Infatti è dimostrato che sia la metilazione del DNA sia le modificazioni della cromatina possono ridurre al silenzio i geni.

Sulla base di questi dati sembra probabile che i problemi incontrati nella clonazione siano dovuti a difetti della riprogrammazione dei geni del nucleo somatico da parte del citoplasma dell'ovocita. Durante la maturazione delle cellule germinali la riprogrammazione procede per un periodo di parecchi mesi. Invece nella clonazione il tempo a disposizione, tra l'introduzione del nucleo nell'ovocita e l'inizio della divisione delle cellule, è molto breve: solo ore. Probabilmente il citoplasma dell'ovocita è sì competente per attuare la riprogrammazione, ma non può farlo così rapidamente; il risultato è quindi una riprogrammazione incompleta. La riprogrammazione prodotta con i meccanismi indicati, e specialmente con le modificazioni della cromatina, non interessa tutto il genoma simultaneamente, perché la struttura della cromatina è regolata in modo regionale; perciò i difetti risultanti da un'incompleta riprogrammazione sono localizzati in regioni discrete del genoma, e possono anche essere distribuiti in modo diverso in nuclei diversi, dando luogo a difetti di varia natura, differenti da un nucleo all'altro e incompatibili con la vita per molteplici ragioni.

Queste considerazioni suggeriscono che i risultati della clonazione potranno essere resi molto migliori se si riuscirà a capire bene come avviene la riprogrammazione dei nuclei e che ruolo vi ha il citoplasma dell'ovocita. Da queste conoscenze potrebbero infatti risultare nuovi metodi di clonazione, per esempio tali da dare più tempo alla riprogrammazione, prima che inizi la moltiplicazione del nucleo inserito.

Una clonazione umana?

La clonazione da trasferimento nucleare negli animali è un processo che può avere molte conseguenze pratiche importanti. Prima di tutto lo studio della clonazione animale sarà essenziale per chiarire il problema già discusso della riprogrammazione dei geni. Applicazioni pratiche dirette della clonazione possono interessare il campo zootecnico, in cui si lavora molto per ottenere, tramite l'ingegneria genetica, animali con caratteristiche speciali, utili per l'uomo. Per esempio: bovini con carne più abbondante; pecore che producano proteine umane nel latte, da usare per scopi medici; maiali geneticamente modificati in modo che i loro organi possano essere usati per trapianti nell'uomo.

Tramite l'ingegneria genetica si può ottenere un animale per volta con una di tali caratteristiche. Con la clonazione di un animale che manifesti le caratteristiche desiderate in modo spiccato si potrebbe invece ottenere, in un tempo più breve, un numero illimitato di animali esattamente con le stesse caratteristiche, perché essi avrebbero tutti i geni identici a quelli dell'animale di partenza. Ma c'è un problema immediato in questo progetto: che la resa di animali normali nella clonazione da trasferimento nucleare è ancora troppo bassa, rendendo il procedimento difficile da un punto di vista logistico ed economico. È però possibile che queste difficoltà siano superate in breve tempo.

La possibilità di usare la clonazione da trasferimento nucleare nell'uomo è stata proposta in vari modi. Il trasferimento di un nucleo somatico a una cellula uovo è già stato fatto una volta, e si è ottenuta una cellula fecondata che ha cominciato a moltiplicarsi normalmente fino a quattro cellule; a questo stadio il prodotto è stato distrutto. Un passo avanti è stato fatto recentemente da ricercatori coreani, che hanno raccolto 242 ovociti da volontarie e hanno introdotto in ciascuno di essi un nucleo somatico della stessa donatrice. Dagli embrioni così prodotti sono riusciti a ottenere una linea di cellule staminali umane. Una linea da 242 embrioni non è molto, ma è meglio di nulla. Questi risultati dicono soltanto che è possibile dare inizio alla clonazione nell'uomo, ma anche confermano ciò che si sapeva da studi con animali, che la probabilità di successo è molto piccola.

Questo vale anche per il progetto indicato inizialmente, quello di ottenere un bambino sano da una coppia in cui entrambi i partner sono portatori dello stesso gene patogeno. Come principio, l'idea appare giusta;

ma in pratica le difficoltà sono enormi, specialmente in relazione al bassissimo rendimento. Questo richiederebbe qualche centinaio di tentativi per ottenere un bambino in condizioni soddisfacenti (o quasi). Ma come affrontare il problema che tra i tanti tentativi ce ne sia uno che porti alla nascita di un bambino con difetti, forse anche gravi, che lo accompagneranno per tutta la vita? Il risultato, ottenuto con enormi sforzi, non sarebbe migliore della nascita di un bambino con l'handicap dovuto alla malattia genetica che si intendeva evitare.

È chiaro che è completamente prematuro pensare a procedure come questa nell'uomo; forse con il tempo, e con l'aumentare delle conoscenze, esse diventeranno fattibili. Allora bisognerà solo affrontare i problemi etici e legali che senza dubbio si accumuleranno sulla clonazione umana, anche se tecnicamente perfetta.

Curare i geni con i geni

Il metodo

Oggi conosciamo essenzialmente tutti i nostri geni e quelli di altre specie e tale conoscenza potrà aiutare i malati in cui l'alterazione di un gene è causa di malattia. Però attualmente ben poche cure sono di vero beneficio a questi malati. In qualche caso la malattia si può arrestare, come nel caso della fenilchetonuria, adottando una dieta appropriata. In questa malattia una proteina che dovrebbe eliminare gli, eccessi di un amminoacido (la fenilalanina), è deficiente; allora l'amminoacido, assieme a suoi derivati, si accumula fino a produrre alterazioni nel cervello, che causano con il tempo un ritardo mentale. I neonati con questa malattia appaiono normali, e la fenilchetonuria si può sospettare se nella famiglia ci sono altri membri affetti. La diagnosi è basata sull'osservazione di un aumento di fenilalanina nel sangue, ed è rinforzata dall'analisi del DNA del paziente quando vi si riconoscono marcatori presenti nei parenti affetti dalla malattia. Una volta fatta la diagnosi, la prevenzione è chiara: bisogna che i cibi usati dal bambino siano poveri di fenilalanina; e questo è sufficiente.

Ma si tratta di un caso molto raro; nella grande maggioranza degli altri casi non c'è nulla di simile. Per cercare di aiutare questi pazienti è sorta una nuova forma di terapia: la «terapia genica». Il principio della terapia è semplice: dato che il difetto del gene ha conseguenze su certi organi o tipi cellulari, bisogna intervenire su di essi. Per esempio, il gene della distrofia muscolare provoca difetti nei muscoli, quello della fibrosi cistica nel polmone e così via; si dovrebbe allora intervenire su questi organi. Il fatto che il difetto del gene si manifesti solo in certi organi o tipi cellulari è di aiuto, perché non è necessario cercare di modificare tutte le cellule dell'organismo, ma solo quelle che risentono dell'alterazione genetica. Perciò si pensò che il difetto si potesse correggere introducendo una copia normale del gene appunto nelle cellule che soffrono per il suo difetto. Questo concetto si sviluppò nel periodo in cui i ricercatori interessati nell'ingegneria genetica isolavano geni vari, li immettevano in un anello di

DNA capace di moltiplicarsi in batteri (un «plasmide»), quindi introducevano il complesso nei batteri dove si moltiplicavano e dove potevano anche dar luogo alla produzione della proteina corrispondente. Questo forniva un modello perfetto per quello che si doveva fare nei pazienti, perché è essenziale che il gene normale possa dar luogo alla formazione della sua proteina, che è quello che conta.

A questo punto abbiamo il sistema completo necessario per la terapia genica: il gene, che possiamo manipolare, il «vettore», cioè il mezzo per trasportare il gene e introdurlo nelle cellule, che era il plasmide, e le cellule in cui introdurre il gene. Rapidamente ci fu un notevole sviluppo nel campo dei vettori; se ne svilupparono molti nuovi tipi, derivati specialmente da virus capaci di infettare le cellule in cui si doveva introdurre il gene. I vettori di questo tipo, detti «vettori virali», sono ottenuti basandosi sulle conoscenze della biologia di ciascun virus: il genoma del virus, che può essere DNA o RNA, è modificato radicalmente, eliminando tutti i geni necessari per la moltiplicazione del virus e per i suoi effetti dannosi sulle cellule, lasciandovi le parti necessarie per accogliere il gene, e trasportarlo dentro le cellule. Il vettore così modificato non può crescere da sé, e perciò viene fatto crescere in una cellula che può fornire le parti necessarie, quali l'involucro che protegge il gene e permette la sua entrata nelle cellule.

C'è stata una notevole evoluzione nella scelta dei virus da usare come vettori, che fu determinata dallo sviluppo delle conoscenze sui virus stessi. Dapprima si usarono virus che possono provocare tumori in animali, chiamati retrovirus perché usano la «retrotrascrizione», cioè hanno un genoma di RNA e nella cellula lo copiano formando molecole di DNA, in contrasto con la situazione prevalente nelle cellule in cui l'RNA messaggero è prodotto come copia del DNA. Questi virus hanno il vantaggio che, dopo essere entrati nelle cellule, il DNA che riproduce il loro genoma va a inserirsi nel DNA della cellula, dove rimane: così il gene trasportato può rimanere permanentemente nella cellula, finché questa sopravvive. Un loro svantaggio è che questo avviene solo in cellule che si dividono, perché durante la divisione la membrana che normalmente circonda il nucleo della cellula temporaneamente scompare e il DNA del virus può raggiungere il DNA della cellula; perciò esso non può introdurre un gene in molti tipi cellulari che non si moltiplicano, come quelli del muscolo o del sistema nervoso. Questo problema fu successivamente risolto con lo sviluppo di un nuovo vettore basato su una classe speciale di

retrovirus a cui appartiene il virus HIV responsabile dell'AIDS; questi virus possono infettare anche cellule che non si dividono perché hanno un meccanismo per far penetrare il loro DNA attraverso la membrana nucleare intatta.

Altri tipi di virus assai usati sono molto diversi: essi hanno il genoma di DNA, il che semplifica le cose, e si moltiplicano facilmente, una cosa molto utile; però non si inseriscono nel DNA della cellula, e perciò non sono adatti per terapie di lunga durata. Questi sono gli «adenovirus», virus umani che provocano infiammazioni nell'apparato respiratorio. Un altro svantaggio è che essi suscitano una forte reazione immunologica nell'uomo, per cui non si possono usare ripetutamente nello stesso individuo. Essi sono anche tossici a dosi elevate, come fu dimostrato dalla morte di un paziente sottoposto a intensa terapia genica usando questo virus come vettore. Da allora il suo uso è stato fortemente ridotto. Recentemente questo virus è stato sostituito con uno dalle caratteristiche molto diverse, noto come AAV *(adeno-associated virus)*. Il nome deriva dal fatto che il virus si moltiplica solo in cellule coinfettate da un adeno virus, che è necessario per provvedere delle funzioni di cui il virus AAV non è capace. Tale virus ha molti vantaggi come vettore: inserisce il suo DNA nel DNA della cellula, permettendo così una lunga durata dell'azione del gene che trasporta, e non suscita eccessive reazioni immunitarie nel paziente. Lo svantaggio è che è piuttosto piccolo e non può trasportare geni un po' lunghi.

Al giorno d'oggi i vettori derivati dall'AAV e dall'HIV sono quelli più usati. Si sono sviluppati anche altri tipi di vettori non virali e si è visto che in certe situazioni il DNA del gene, senza alcun vettore, può penetrare nelle cellule e produrre il suo effetto. Questa proprietà è sfruttata in circostanze speciali.

Il vettore deve essere capace di entrare nelle cellule in cui si vuole introdurre il gene, il che dipende dalle caratteristiche del virus da cui il vettore è derivato; molti virus possono entrare in cellule di tipi diversi, perciò non c'è problema; nei casi in cui ciò non sia possibile, si tende a usare un virus modificato, per esempio avvolto nell'involucro di un altro virus capace di penetrare nella cellula su cui si vuol lavorare.

Problemi

Una volta che si abbiano il gene e il vettore, e si conoscano le cellule che si vogliono modificare, ci sono le basi per la terapia genica; ma rimangono molti altri problemi. Uno serio è che l'attività produttiva del gene nelle cellule non è regolata, cioè il gene funziona indefinitamente. In certi casi questo non è un problema, mentre è un problema molto serio in altri. Un esempio classico è quello del gene che determina la formazione di insulina, necessaria per combattere il diabete mellito. La produzione di insulina deve essere controllata molto accuratamente, perché un eccesso nel sangue causa una forte diminuzione del livello di glucosio, che può dar luogo a sintomi come confusione mentale e convulsioni. Nell'organismo ci sono meccanismi complessi per mantenere il livello del glucosio entro limiti fisiologici. La terapia usuale della malattia è basata sull'iniezione periodica di insulina, cercando di seguire le variazioni di glucosio nel sangue, che sono connesse ai pasti; la sincronizzazione è però spesso imperfetta, e produce dei disturbi. Per evitare queste difficoltà si è pensato a una terapia più permanente; molta ricerca in corso cerca di utilizzare trapianti delle cellule che producono insulina nel pancreas.

I tentativi di terapia genica del diabete sono stati limitati dalla difficoltà di sincronizzare il rilascio di insulina nel sangue con il livello di glucosio. Un esperimento recente sembra promettere bene. Invece di usare il gene per l'insulina normale, se ne è usato un derivato ottenuto con l'ingegneria genetica, che comprende solo una parte del gene; l'insulina prodotta ha circa un terzo dell'attività dell'insulina normale. Il gene modificato è stato connesso a una regione di controllo che attiva il gene in risposta alla presenza di glucosio. Il gene così ingegnerizzato è stato iniettato in topi e ratti, in cui si è stabilito nelle cellule del fegato, e per otto mesi ha continuato a versare insulina nel sangue in quantità sufficiente da compensare uno stato diabetico. L'immissione di insulina nel sangue dopo un aumento della concentrazione del glucosio avveniva più lentamente che nel caso normale, perché l'insulina doveva essere prima prodotta e poi rilasciata, mentre nel caso normale è pronta nelle cellule e viene immediatamente rilasciata quando il glucosio aumenta. Ma ciò non ha creato problemi. Un'altra differenza era che, mentre l'insulina normale, dopo essere stata prodotta, viene spaccata da un enzima in due parti, di cui una sola è attiva, ciò non avveniva in quella ingegnerizzata; ma siccome il frammento presente in essa aveva l'attività dell'insulina normale, nemmeno

questo di nuovo ha creato problemi.

Un altro problema della terapia genica sta nel raggiungere le cellule desiderate. Nella maggior parte dei casi il vettore viene iniettato dentro un organo, dove entra in tutte le cellule che può; se si desidera raggiungere certi tipi speciali di cellule, lo si fa depositando il vettore vicino a esse. Alcuni tipi cellulari hanno alla loro superficie delle proteine note che non sono presenti in altre cellule; esse si potrebbero prendere come obbiettivo costruendo un vettore che le usi per entrare nelle cellule. Ma non è facile farlo. Poi, quando il vettore raggiunge le cellule, nascono altri problemi. Per esempio: quante cellule vengono modificate? Se il numero non è sufficiente, non si può ottenere un effetto terapeutico. Questo problema è connesso con la quantità del vettore che si adopera, perché più vettore si impiega, più cellule vengono raggiunte. Però c'è un limite alla sua quantità, prima di tutto perché spesso è molto difficile ottenerne delle grandi quantità, ma anche perché gli effetti collaterali che può produrre (quali reazioni immunitarie e tossicità varie) aumentano con la dose somministrata. La morte di un paziente trattato con un vettore adenovirus è da attribuire a tali circostanze, perché, per ottenere degli effetti terapeutici più pronunciati, la dose del vettore fu spinta oltre il massimo precedentemente usato.

Risultati e promesse

Gli studi sugli effetti della terapia genica, generalmente in animali, ma occasionalmente in pazienti umani, sono andati avanti per molti anni, ma con risultati quasi sempre negativi. Solo in quest'ultimo periodo si sono registrati due ottimi risultati: un notevole miglioramento di pazienti affetti da una forma di emofilia e ritorno alla normalità di bambini con una insufficienza immunologica, che non possono resistere a infezioni anche banali.

Questi successi non solo sono molto incoraggianti per i continui sviluppi della terapia genica, ma ci dicono anche quali ne sono i limiti. Nel caso dell'emofilia, per ottenere un effetto terapeutico bisogna mantenere nel sangue una concentrazione minima dei vari fattori di coagulazione; e questo si può ottenere immettendo il gene in cellule di vari tipi: per esempio, muscolo, pelle o fegato. Le cellule producono il fattore e lo liberano, in modo che possa raggiungere il sangue. Non c'è pericolo di una

produzione eccessiva; anzi finora la quantità del fattore presente nel sangue dei pazienti trattati è stata poco più dell'1% della quantità normale; perciò c'è ancora molto da fare per raggiungere un limite fisiologico. Ma anche così c'è stato un chiaro effetto terapeutico. Nell'altro caso il gene deve agire sui linfociti presenti nel sangue e nel midollo osseo, che sono facilmente ottenibili dal paziente; dopo avervi introdotto il gene essi sono reintrodotti nel paziente stesso e, se il gene trapiantato funziona, essi acquistano un vantaggio sui linfociti difettosi, in maniera che li sostituiscono completamente. Perciò in queste malattie c'è un doppio vantaggio: l'accessibilità delle cellule e il vantaggio moltiplicativo conferito dalla presenza del gene normale.

Il vantaggio moltiplicativo è molto importante, come è stato dimostrato dalla storia degli interventi di terapia genica su pazienti con immunodeficienze. Già al principio degli anni Novanta si era tentata la terapia di una di tali malattie, nota come «deficienza di ADA» (ADA indica un enzima necessario per l'azione dei linfociti); per questa malattia c'era già una terapia sostitutiva, che consisteva nell'iniezione periodica di enzima ADA purificato associato a una sostanza che ne favoriva l'entrata nelle cellule. Quando si iniziò la terapia genica, si continuò il trattamento sostitutivo, seguendo considerazioni etiche secondo cui non si può abbandonare un trattamento di riconosciuta efficacia per instaurarne uno nuovo di efficacia sconosciuta. L'osservazione dei pazienti dimostrò però che la terapia aveva effetto, perché nel loro sangue erano presenti molti linfociti con il gene trapiantato. I pazienti vennero seguiti per parecchi anni, e infine si decise di interrompere il trattamento con l'enzima: si vide allora che la terapia non aveva funzionato. Recentemente lo stesso tentativo è stato ripetuto, ma interrompendo sin dal principio il trattamento con l'enzima: questo ha portato a un notevole successo, in quanto i pazienti ora stanno bene e non hanno più bisogno della terapia sostitutiva. Evidentemente, nel caso iniziale la terapia sostitutiva mantenne i linfociti difettosi alla pari con quelli modificati dalla terapia genica, impedendo a questi ultimi di sostituirli; anzi, i linfociti modificati forse erano in svantaggio per la presenza del gene aggiunto, che poteva provocare qualche disturbo a livello dell'intero genoma. Nel caso recente si è evitato questo problema, da cui il chiaro successo.

Un risultato recente dimostra molto chiaramente sia il potenziale della terapia genica sia i suoi rischi. È il tentativo di curare bambini affetti da un'altra forma di immunodeficienza, nota come SCID *(severe combined*

immunodeficiency), che porta a una morte precoce. Per migliorare il loro stato, questi bambini possono ricevere un trapianto di midollo osseo, che però non funziona in tutti i casi, per la difficoltà di trovare un donatore adatto. Invece, in un progetto di terapia genica presso un ospedale di Parigi, tutti i 10 bambini trattati vennero curati con successo. Purtroppo, entro un anno due dei bambini svilupparono una forma di leucemia. Questo tragico sviluppo arrestò i tentativi della terapia in corso in molti ospedali; nello stesso tempo si cercò di capire le ragioni della complicazione. La ragione che venne fuori è che nei due casi il gene introdotto nelle cellule andò a stabilirsi nel genoma dei bambini vicino a un gene già noto che, se stimolato eccessivamente, causa una leucemia.

Questo è uno dei problemi della terapia genica: la localizzazione del gene introdotto, che è sconosciuta quando si usano i retrovirus come vettori. Si sa che il gene può localizzarsi in molte posizioni nel genoma ospite, ma non si sa se ciò avvenga completamente a caso, o se ci siano dei luoghi favoriti. Nel secondo caso sarebbe possibile evitare i luoghi pericolosi. Comunque, l'opinione dei medici è che la terapia genica dello SCID deve essere ripresa, perché è il miglior tipo di trattamento possibile, sebbene comporti un rischio. Dopo tutto, non si fa nulla che non abbia un certo rischio. E poi il rischio qui non è estremo, perché la leucemia indotta è probabilmente curabile.

Terapia con cellule staminali

Un altro indirizzo per la cura di malattie dovute ad alterazioni genetiche potrebbe essere quello di sostituire le cellule che contengono il gene alterato, che sono sempre altamente specializzate, con cellule simili contenenti il gene normale. Però ottenere cellule specializzate nelle quantità necessarie per un tale intervento è essenzialmente impossibile; e anche se si potesse fare, la loro vita sarebbe breve. D'altra parte, è già stato possibile curare un'immunodeficienza congenita con il trapianto nel feto di cellule ottenute dal sangue contenuto nel cordone ombelicale residuo dopo un parto.

Che cosa sono le cellule staminali

La ragione di questo successo è data da una delle più interessanti scoperte di questi ultimi anni nel campo biomedico. Prima di entrare nel merito della scoperta dobbiamo considerare come l'organismo si sviluppa. Esso parte da un ovocita fecondato, perciò da una sola cellula, che si divide dando luogo a due cellule uguali che a loro volta si dividono producendo quattro cellule, e così via. Rapidamente il numero aumenta, e potrebbe produrre una grande massa di cellule tutte uguali. In realtà questo non avviene: invece il prodotto è il corpo di un essere vivente, che contiene cellule di molti tipi diversi. Questo succede perché le cellule derivate dall'ovocita fecondato non solo possono moltiplicarsi, ma anche cambiare, cioè «differenziarsi». La differenziazione avviene per stadi successivi determinati dal genoma.

La prima differenziazione separa le cellule che daranno luogo al corpo dell'individuo da quelle che formeranno le membrane che lo circonderanno durante lo sviluppo, come la placenta. Poi le cellule del corpo si separano in due gruppi: quelle destinate a formare la parte esterna del corpo, cioè la pelle e i suoi accessori, e quelle che daranno luogo alla parte interna, cioè l'intestino e i suoi accessori. Poi le suddivisioni continuano, creando

cellule sempre più specializzate. Perciò possiamo paragonare la crescita dell'individuo a quella di un albero un po' speciale, che comincia con un gambo diritto, poi produce alcuni rami tutti diversi, e infine ogni ramo produce un certo numero di ramoscelli, anch'essi tutti diversi. Questo significa che le cellule iniziali (il gambo) hanno una grande capacità di differenziarsi, perché danno luogo, indirettamente, a tutti i ramoscelli, mentre quelle che compaiono più tardi ne hanno uno minore, che diminuisce progressivamente. Perciò possiamo fare una distinzione tra le cellule iniziali, che sono «totipotenti» e quelle «pluripotenti» (in modo vario) presenti nell'embrione tardivo.

Ma quando l'organismo è completamente sviluppato l'attività delle cellule non si ferma; in molti organi si può dimostrare la presenza di cellule in via di divisione, sebbene in numero scarso. Questo avviene perché le cellule sono in continuo rinnovamento: quelle vecchie muoiono e vengono rimpiazzate da cellule nuove. Perciò cellule pluripotenti esistono anche negli organi dell'organismo adulto, in i cui ci sono cellule di due tipi: quelle completamente differenziate, incapaci di rinnovarsi, che chiameremo «terminali» e sono destinate prima o poi a morire, e quelle pluripotenti, cioè «staminali», che rinnovano se stesse e le cellule terminali. Nel corpo adulto ci sono tipi diversi di cellule staminali - da quelle presenti nell'embrione a quelle presenti nei vari organi - così come anche di cellule terminali ce ne sono molti tipi diversi, nei vari organi.

Ora possiamo capire perché le cellule estratte dal sangue del cordone ombelicale possono curare l'immunodeficienza ereditaria: perché, come costituente del feto, quel sangue contiene cellule staminali capaci di dar luogo a tutte le cellule del sangue e del sistema immunitario. Dopo l'introduzione in un feto in cui l'alterazione di un gene impedisce il normale sviluppo del sistema, queste cellule ricostruiscono tutto il sistema daccapo, e siccome queste cellule sono normali, la malattia scompare.

Le cellule staminali devono compiere due funzioni che sembrano incompatibili: devono persistere inalterate indefinitamente, per mantenere la possibilità di rinnovamento delle cellule dell'organismo, e nello stesso tempo devono differenziarsi in cellule specializzate dei vari organi. Esse possono compiere i due compiti in virtù di una capacità che altre cellule non hanno: quando si dividono, esse possono produrre due cellule figlie differenti. Una rimane come cellula staminale indifferenziata, l'altra prende la via della differenziazione.

Per mantenere questa duplice capacità le cellule staminali devono

rimanere in un ambiente adatto, noto come la «nicchia». Cellule staminali dei vari organi hanno nicchie diverse. Nelle nicchie esse ricevono da altre cellule con cui sono in contatto i segnali necessari per mantenersi nello stato originario. Quando una cellula staminale si divide, la cellula figlia che prende la via della differenziazione lascia la nicchia, migrando nei tessuti circostanti, dove riceverà nuovi segnali dalle cellule che la circondano. Così questa cellula diventa parte di un complesso con altre cellule, che evolve con il progredire della differenziazione.

La fonte delle cellule staminali

La fonte più importante di cellule staminali sono le cellule dell'embrione precoce (destinate a costruire il corpo dell'individuo), presenti una diecina di giorni dopo la fecondazione. La cosa stupefacente è che queste cellule possono essere estratte dall'embrione, possono essere messe in coltura e mantenute per lungo tempo, e poi, dopo che una cellula ne ha creato alcune migliaia, tutte si comportano ancora nello stesso modo, cioè rimangono capaci di differenziarsi in qualunque direzione. Questa proprietà ha suggerito che le cellule staminali embrionali possano essere usate per compensare difetti ereditari in molti tipi di cellule, essenzialmente in tutti i tipi a cui esse possono dar luogo, il che significa, praticamente, in ogni cellula dell'organismo. Più specificatamente, c'è grande speranza che esse possano rappresentare la base per sviluppare nuove terapie che combattono le cosiddette malattie degenerative, cioè le malattie in cui determinati tipi di cellule muoiono per ragioni varie e non sono sostituite da cellule nuove. Esempi possibili sono il «morbo di Parkinson» e il «morbo di Alzheimer», entrambi dovuti a perdite di cellule in diverse aree del cervello, l'infarto miocardico e il deficit epatico. Esempi già in atto sono l'uso di cellule staminali del midollo osseo per il trattamento di malattie del sangue e del sistema immunitario, e di cellule staminali della pelle per curare vaste lesioni cutanee dovute, per esempio, a ustioni.

Date queste possibilità, si discute molto sul tipo di cellule staminali da usare per varie terapie. Si potrebbero ottenere da un embrione precoce, oppure da un feto, o da vari organi dell'individuo adulto. Però bisogna riconoscere che ci sono delle differenze: le cellule staminali dell'embrione sono totipotenti (il tronco dell'albero), mentre le altre sono pluripotenti in vari modi (i vari rami dell'albero). Ci sono dei grandi problemi etici

nell'uso di cellule embrionali umane, perché per ottenerle bisogna distruggere un embrione.

Molti ricercatori pensano che questo problema non dovrebbe esistere per le cellule ottenute da embrioni sovrannumerari, che sono presenti in gran numero nei congelatori delle cliniche che praticano la fecondazione in vitro. Questi sono embrioni a un primissimo stadio di sviluppo, prodotti in eccesso sul numero utile per l'introduzione nell'utero della madre, e perciò congelati; essi sarebbero perfettamente adeguati come donatori di cellule staminali. Nello stato di congelamento sopravvivono inalterati per lungo tempo, ma dopo anni cominciano a morire. Potrebbero essere usati per dare la possibilità a una donna non fertile di avere un figlio; ma questo uso è raro, e migliaia di essi restano nei congelatori senza alcuno scopo. Alla fine moriranno o saranno distrutti. Ma non c'è accordo sul loro uso per la produzione di cellule staminali umane.

Si prospettano due soluzioni possibili sull'uso di cellule staminali umane per scopi terapeutici, senza ricorrere all'uso degli embrioni soprannumerari: usare cellule staminali adulte, che sono presenti in quasi tutti gli organi, o ricorrere alla clonazione da trasferimento di nucleo somatico, di cui abbiamo già parlato.

L'uso di cellule staminali adulte sarebbe preferibile perché non susciterebbe alcun problema etico. Il limite più grande di queste cellule è che esse sono destinate a rimpiazzare i tipi cellulari presenti nell'organo da cui sono estratte; un chiaro esempio sono quelle della pelle, che sono estremamente utili per ricostruire la pelle danneggiata. Si pone perciò il problema se queste cellule possono dare luogo a cellule di un altro organo (fenomeno noto come «transdifferenziazione»). Le risposte a questa domanda sono state di vario tipo, da un estremo all'altro. Dapprima si sospettava che la transdifferenziazione fosse possibile. Ma poi si cambiò opinione, sulla base di studi del comportamento di cellule staminali del midollo osseo, che sono facilmente ottenibili anche nell'uomo perché sono presentì nel sangue residuo che si trova nel cordone ombelicale dopo il parto. Queste cellule furono introdotte in organi diversi, e il loro comportamento venne studiato usando dei marcatori specifici dei tipi cellulari dell'organo in cui erano introdotte, per distinguere le une dalle altre. Si osservò che dopo qualche tempo una frazione delle cellule staminali introdotte presentava tali marcatori; questo fu interpretato come transdifferenziazione. Però un'osservazione più accurata suggerì che queste non erano le cellule staminali originali, ma il risultato della fusione di

alcune di esse con cellule dell'organo. Più recentemente è stato riportato che ciò non è sempre vero, che spesso le cellule con i marcatori non sono il risultato della fusione. Naturalmente è possibile che tutti questi fenomeni avvengano in casi diversi; ma il dubbio limita l'interesse nell'uso di cellule staminali adulte.

L'altra possibilità viene suggerita dagli eventi che hanno luogo nella clonazione da trasferimento di nucleo somatico, di cui abbiamo parlato. In questa operazione il nucleo di una cellula adulta viene riprogrammato in modo da renderlo simile a quello di una cellula embrionale. Il meccanismo di riprogrammazione non è noto, ma è oggetto di intensi studi ed è probabile che verrà rivelato quanto prima. Se questo succederà si aprirà una possibilità molto interessante, cioè che ogni cellula del corpo può essere trasformata in una cellula staminale riprogrammandone il nucleo.

Le possibilità terapeutiche

Per attuare una terapia, dopo aver identificato le cellule staminali adatte per un certo scopo, bisogna avviarle nella direzione del tipo cellulare che si vuole sostituire. Si sa che la differenziazione di queste cellule è diretta da molte sostanze, prodotte da altre cellule; alcune delle sostanze sono note. Però non siamo ancora in grado di dirigere una cellula staminale a produrre cellule esclusivamente di un certo tipo, come, per esempio, le cellule nervose che muoiono nei pazienti con il morbo di Parkinson; c'è però molto interesse nell'identificazione di questi fattori, e si sono già fatti dei buoni progressi. Ma anche se i fattori specifici non sono noti, si può seguire un'altra direzione: in alcuni esperimenti su animali si è visto che una cellula staminale, immessa nell'ambiente in cui le cellule normali si differenziano in una data direzione, fa lo stesso e si differenzia nello stesso modo. Questo vuol dire che i fattori necessari per la differenziazione delle cellule sono prodotti dalle cellule che convivono nello stesso ambiente. Se questa è una situazione generale, il compito sarà di gran lunga facilitato. Lo sapremo presto.

La possibilità di ottenere cellule staminali dall'individuo stesso in cui esse si devono far agire aumenta di molto il loro potenziale terapeutico, perché, anche dopo essere state coltivate in vitro e modificate fisiologicamente o geneticamente, esse possono essere reintrodotte nell'organismo senza timore che siano rigettate dal sistema immunitario

ricevente, come avviene per le cellule a esso estranee. Questa sarebbe una difficoltà nell'uso di cellule staminali embrionali, che verrebbero riconosciute come estranee; il pericolo del rigetto potrebbe essere ridotto in vari modi, ma sarebbe sempre una preoccupazione.

Vediamo comunque quali risultati sono già stati ottenuti nei tentativi di ricostruire organi o tessuti usando cellule staminali. La maggior parte di essi sono stati ottenuti in animali. Un risultato concerne ratti in cui si era prodotta un'emorragia cerebrale, con distruzione di parte del cervello, in vicinanza all'area dove si sa che esistono cellule staminali del sistema nervoso. Nell'animale lesionato, queste cellule si mobilitavano, migravano verso l'area distrutta, dove sviluppavano i prolungamenti (assoni) usati dalle cellule nervose per connettere con altre cellule nervose, e formavano le connessioni. In questo caso le cellule staminali adulte hanno risposto ai cambiamenti, e si sono comportate come vere e proprie cellule nervose. In un altro caso, cellule staminali di ratto, questa volta embrionali, vennero introdotte nel midollo spinale di ratti con danni paralizzanti: esse produssero lunghi assoni, simili a quelli di cellule nervose normali. Anche cellule embrionali umane si comportarono nello stesso modo quando vennero introdotte nella corteccia cerebrale di un ratto danneggiato per occlusione di un'arteria.

Per ora sono stati pochi i tentativi terapeutici nell'uomo, usando cellule staminali umane; per lo più essi riguardano cellule staminali del midollo osseo. Un caso molto controverso è l'effetto della loro introduzione nel cuore dopo un infarto. Alcuni risultati sembrano essere stati debolmente utili, altri furono negativi; alcuni ricercatori pensano che le cellule si transdifferenzino diventando cellule muscolari del cuore, altri lo negano e credono che si differenzino soltanto nella direzione di cellule del midollo, cioè formando cellule del sangue o del sistema linfatico, e che questo può spiegare gli effetti utili osservati in qualche caso.

L'uso di cellule staminali potrà essere di grande aiuto alla terapia genica. In questa terapia ogni tentativo va incontro a molte incognite. Pensiamo, per esempio, alla cura della distrofia muscolare, una malattia genetica ereditaria il cui gene fu identificato molti anni fa. In questi tentativi, una volta accertata la diagnosi si procede con la terapia iniettando vettori contenenti copie del gene normale in varie parti del muscolo. Dopo l'iniezione non si sa però in quante cellule del muscolo il gene sia penetrato, in che parte dei genomi delle varie cellule si sia localizzato, se la produzione della proteina normale sia sufficiente o meno. Perciò

rimangono molte incertezze; è impossibile prevedere se l'intervento potrà essere favorevole; e, se fallisce, non si può sapere se la terapia non era adatta oppure se ci sono stati dei problemi puramente tecnici.

Con l'uso delle cellule staminali la situazione può cambiare enormemente. Si prendono cellule staminali dell'individuo, oppure si producono usando la riprogrammazione del nucleo, poi vi si introduce il gene. Si esamina un certo numero di cellule per determinare la localizzazione del gene introdotto (che varia da cellula a cellula), la stabilità o meno dell'interazione gene-cellula, se la proteina prodotta è normale e se è in quantità sufficiente. Una cellula in cui tutte queste variabili siano le più favorevoli viene selezionata e poi fatta moltiplicare in coltura, in modo da ottenerne un numero adeguato; infine le cellule sono iniettate in vari punti dei muscoli. Se nell'ambiente del muscolo queste cellule staminali si differenziassero nella direzione di cellule muscolari, come ci si aspetterebbe, esse potrebbero generare un numero di cellule muscolari mature sufficienti per migliorare la situazione del paziente. Se, d'altra parte, il risultato fosse negativo, si potrebbero escludere problemi tecnici, il che permetterebbe un passo avanti nella ricerca.

È anche possibile ingegnerizzare le cellule staminali in maniera tale che producano proteine con valore terapeutico e le rilascino nel sangue; questo risultato è stato ottenuto in sistemi sperimentali, per esempio per l'eritropoietina (che combatte l'anemia), per l'ormone della crescita e per fattori di coagulazione che combattono l'emofilia. Perciò appare chiaro che le cellule staminali potranno essere di grande utilità per combattere le malattie genetiche.

Problemi etici

L'uso di cellule staminali embrionali umane, sia a scopo di ricerca sia di terapia, è fortemente contrastato, specialmente in alcuni paesi. La ragione è che per ottenere queste cellule bisogna uccidere l'embrione. Anche l'uso di embrioni soprannumerari, prodotti nelle cliniche che attuano fecondazione in vitro, è proibito, sebbene, come già detto, questi embrioni siano destinati a morire. Le ragioni sono filosofiche e religiose.

Il punto principale delle obbiezioni è il ritenere l'embrione, a qualunque stadio dopo la fecondazione, una persona umana, avendo diritti identici a quelli di una persona. Dal punto di vista biologico, questa interpretazione

non è corretta, perché un embrione prodotto in vitro, se mantenuto nello stesso ambiente, non può svilupparsi. Per potersi sviluppare, l'embrione deve essere immesso nell'utero preparato di una donna. Perciò non è un vero embrione, è un «preembrione». Dopo l'introduzione nell'utero, il preembrione stabilisce contatti con le cellule della mucosa uterina, da esse riceve segnali, sostanze nutritive, ormoni, cioè tutto ciò che gli permetterà di crescere e svilupparsi; in questo modo diventa un vero embrione.

Un argomento contro questo punto di vista è che il preembrione ha la possibilità di dar luogo a un embrione, cioè a una persona, se si attuano le condizione necessarie. Perciò l'argomento punta non su quello che è, ma su ciò che può diventare. Ma questo argomento, se generalizzato, potrebbe portare a conseguenze inaccettabili. Facciamo un esempio. Sappiamo che nella clonazione il nucleo di una cellula qualunque del corpo, se introdotto in un ovocita privato del suo nucleo, può portare allo sviluppo di un embrione; allora dovrebbe essere proibito causare la morte di una qualunque cellula del corpo, perché i suoi geni potrebbero dare luogo a una persona. La chirurgia dovrebbe essere abolita.

Nel caso del trasferimento nucleare siamo di nuovo in una situazione in cui si attribuisce al prodotto il significato di embrione. Ma è molto diverso dall'embrione: non ha il nucleo dell'ovocita, non è stato fecondato da uno spermatozoo; per iniziarne lo sviluppo, lo si deve sottoporre a scariche elettriche o ad altri trattamenti non fisiologici. Considerarlo alla pari di un vero embrione è certo un'esagerazione.

Bisogna anche pensare che in tutti i casi abbiamo a che fare con un mucchietto di cellule, senza capacità di muoversi, di ricevere segnali o di rispondere a essi: è ben diverso dalla persona a cui viene paragonato.

Il cancro come malattia dei geni

Il gene ribelle

Una donna per caso si tocca un seno e nota qualche cosa di insolito, qualcosa di piuttosto duro, che non fa male; lo palpa con attenzione, sì, è qualcosa che non aveva mai notato prima. Forse un'infezione? Passerà tra qualche giorno. Si veste e va a lavorare. Però nei giorni seguenti niente cambia. Potrebbe essere un cancro? Questa è una possibilità che la spaventa, vorrebbe dimenticarla ma non può. Così va dal dottore. Il medico ascolta la storia con aria preoccupata e decide: «Dobbiamo fare una mammografia».

La donna ora è terrorizzata: «Pensa che sia un cancro?»

«Non lo so, dobbiamo esaminarlo con cura. Sua madre o le sue sorelle hanno avuto un cancro del seno?»

«No, non credo.»

«Bene, è una buona cosa, ma non lo esclude. Vedremo cosa dice la mammografia.»

Sì, era un cancro, sebbene la donna avesse sempre condotto una vita normale e senza eccessi. «Perché è capitato?» si chiede. «E quando ha avuto inizio?» Il medico dice che il suo cancro è nato da una lesione che iniziò forse vent'anni prima, passata inosservata per tutto quel tempo. Ma come lo sa? E le spiega che la prova migliore della durata di un cancro viene dai risultati della bomba atomica esplosa sopra Hiroshima durante l'ultima guerra mondiale, perché tra i sopravvissuti alcune donne hanno presentato un cancro diciotto o vent'anni dopo. E in quel caso il momento dell'inizio era ben chiaro. Così si sa anche che tra gli uomini c'è stato un notevole aumento della frequenza di cancri del polmone, venticinque o trent'anni dopo che il fumo delle sigarette è aumentato fortemente. «Ma io non ho mai fumato», dice la donna.

«È vero», ribatte il dottore, «ma molti tipi di danni possono portare a un cancro, e noi ne conosciamo solo alcuni.»

La donna non ci vuole più pensare. Sa solo che nella profondità del suo

seno i geni del cancro hanno reclamato la loro indipendenza, il loro egoismo. Si sono ribellati ai controlli severi a cui sono normalmente sottomessi, e facendo ciò hanno reso egoista la cellula. Così questa ha cominciato a crescere, producendo un gran numero di nuove cellule per glorificare l'egoismo del gene. Alla fine tutti, geni e cellule, saranno distrutti dal chirurgo, dal radiologo e dal chemioterapista; ma non lo sanno. Così la vita dell'intero organismo è messa in pericolo.

Il gene ribelle era sotto stretto controllo fino al giorno della ribellione, era parte della squadra che permette alla cellula di regolare la sua moltiplicazione a seconda dei bisogni dell'organismo. Poi successe qualche cosa: si produsse un'alterazione nel suo messaggio proprio nel posto critico per il controllo. Fu il risultato di un errore nell'ultima duplicazione? o fu dovuto a qualche danno sofferto dal gene, per esempio da radiazione? o da qualche sostanza chimica? La donna non era stata esposta a radiazioni, eccetto quelle leggere del dentista o del suo medico, ma chissà, forse una piccola esposizione accidentale del gene ne causò l'alterazione? Oppure l'esposizione al fumo di altri?

La capacità di geni alterati di produrre il cancro fu scoperta studiando virus che possono causare il cancro negli animali: un gene presente nel virus (un retrovirus, di cui abbiamo già parlato) fu riconosciuto responsabile. Più tardi si trovò che non era un gene del virus, ma un gene delle cellule in cui il virus era cresciuto, che si era insediato nel genoma del virus, e poi il virus l'aveva immesso nel genoma della cellula che aveva infettato. Nel trasportare il gene, il virus vi causò un piccolo danno, proprio nella regione destinata al suo controllo, che ne abolì l'attività; e il gene senza controllo causò la moltiplicazione sfrenata della cellula. A ogni moltiplicazione il genoma del virus veniva moltiplicato a sua volta, e quindi trasmesso alle cellule figlie. Così cominciò il tumore. Il gene alterato venne chiamato «oncogene» (dal greco antico: gene del cancro).

Questa scoperta diede inizio a una lunga ricerca per altri geni capaci di produrre lo stesso effetto, e, con il tempo, se ne scoprirono più di cento; tutti hanno la stessa proprietà di liberare le cellule dal controllo della loro moltiplicazione, sebbene le proteine che specificano ciò siano molto diverse. Con l'avvento dell'ingegneria genetica i vari geni vennero poi isolati e studiati nelle loro caratteristiche. Tutti causano la trasformazione della cellula nonostante essa abbia ancora le due copie normali dello stesso gene: perciò gli oncogeni sono dominanti. Questo si capisce dal fatto che il gene ha un'azione positiva, cioè dà un ordine che viene eseguito

indipendentemente dallo stato del gene normale.

Come mai ci sono tanti geni capaci di diventare oncogeni? La ragione, probabilmente, è che l'organismo ha tanti tipi cellulari diversi in organi diversi, ed essi cambiano ripetutamente durante lo sviluppo; perciò l'organismo ha a che fare con migliaia di tipi cellulari diversi, che si comportano in modo indipendente, e deve avere molti geni per controllarli. Su questa base ci si potrebbe aspettare un numero di oncogeni potenziali ancora più grande; forse altri saranno scoperti nel futuro. Però, dopo la conoscenza del genoma, si sono studiati altri geni con struttura simile a quella degli oncogeni già noti: ma nessuno agiva come oncogene. Forse conosciamo già tutti i geni capaci di diventare oncogeni o, per lo meno, la maggioranza.

I geni per la malignità

Presto divenne chiaro che gli oncogeni non possono essere la sola risposta alla formazione dei tumori, che evolvono attraverso una serie di stadi di malignità sempre maggiore, fenomeno noto come «progressione». A ogni stadio le cellule del cancro diventano più anormali, acquistando nuove proprietà che le spingono nella direzione di un aumento della malignità. Perciò ci devono essere in gioco altri geni: quali?

La risposta fu data dalle osservazioni di un pediatra che studiava un tumore raro dei bambini, il retinoblastoma (un tumore della retina). Un'osservazione chiave fu il diverso decorso del tumore in bambini di cui un genitore aveva avuto lo stesso problema (il tumore veniva allora detto «familiare»), rispetto a bambini in cui entrambi i genitori erano normali (il tumore veniva definito «sporadico»). I tumori di tipo familiare si formavano a un'età più giovane, erano spesso multipli e tendevano a colpire entrambi gli occhi; quelli di tipo sporadico erano molto più rari, erano sempre singoli e apparivano più tardi. Il pediatra offrì la seguente spiegazione: il tumore è provocato da un gene alterato che può essere ereditato (casi familiari) oppure può insorgere indipendentemente durante la vita dell'individuo affetto (casi sporadici); e il tumore si forma da cellule in cui entrambe le copie del gene sono alterate o inattive. Nelle forme familiari il bambino eredita una copia alterata e il tumore si forma quando l'altra copia viene alterata indipendentemente, un avvenimento abbastanza frequente, mentre nelle forme sporadiche entrambi i geni devono essere

alterati indipendentemente, un avvenimento molto raro. Così si spiegavano le caratteristiche cliniche osservate.

Queste osservazioni misero in luce l'esistenza di un altro tipo di gene coinvolto nello sviluppo dei cancri, ma con azione opposta a quella degli oncogeni, perché tende a impedirlo; il suo effetto non è dominante, perché il tumore insorge solo quando entrambe le copie del gene sono alterate. Venne chiamato «gene soppressore» del cancro; e oggi se ne conoscono una trentina. Questi geni partecipano anche ai meccanismi che regolano la moltiplicazione e, in generale, il comportamento della cellula; il loro compito è di impedire la prolificazione quando non è necessaria. La loro presenza perciò permette un controllo accurato della proliferazione cellulare, perché quando i geni che possono dar origine agli oncogeni iniziano il processo, i geni soppressori lo fermano. Gli oncogeni sono equivalenti all'acceleratore di un'automobile, i geni soppressori al freno.

Lo studio dei geni soppressori dimostrò che i loro effetti sulle cellule sono importanti per capire che cosa sia il cancro. Molto lavoro di questo tipo si è svolto attorno al gene del retinoblastoma e a un gene chiamato p53 (un nome di laboratorio). C'è molto interesse intorno a quest'ultimo perché protegge il genoma dai danni, una proprietà molto importante perché i danni del genoma possono avere molti effetti, anche disastrasi, sulle cellule.

Il gene p53 lavora così: normalmente è pressoché inattivo, cioè produce poca proteina; se c'è un danno nel DNA della cellula, per esempio da radiazioni o sostanze chimiche, esso riceve un segnale appropriato, che fa aumentare fortemente la produzione della proteina; il suo accumulo ferma la moltiplicazione delle cellule. Allora parecchie attività dirette a riparare il DNA entrano in funzione; se la riparazione ha successo, la cellula riprende la sua attività, se no, si mette in moto un macchinario, già predisposto ma normalmente latente, di «morte fisiologica», per ucciderla. Questo risultato è logico se pensiamo alla cellula come parte dell'organismo: la sopravvivenza della cellula con DNA danneggiato non sarebbe utile all'organismo. È molto meglio che l'organismo si liberi dell'elemento difettoso prima che possa produrre dei guai. C'è perciò un effetto «altruistico» del gene, che sacrifica se stesso e la cellula per la salute dell'organismo. Per questa sua funzione, il gene p53 è stato dichiarato «il guardiano del genoma».

Abbiamo già detto che il cancro progredisce attraverso diversi stadi; molti sforzi sono stati fatti per definire lo stato dei geni nei vari stadi. Il

cancro meglio studiato è quello del colon, perché ha tappe ben definite, ed è possibile ottenere campioni abbastanza facilmente. Questo cancro di solito comincia con la formazione di «polipi», proliferazioni locali benigne della mucosa intestinale. Lo stadio successivo è formato da proliferazioni, ancora benigne ma più pronunciate dentro i polipi stessi, chiamate «adenomi». Il terzo consiste in alterazioni negli adenomi, le cui cellule acquistano caratteri anomali; si dice che diventano «displasici». Questo è il principio della degenerazione verso la malignità. Nel quarto le cellule abbandonano la mucosa e penetrano nei tessuti circostanti; questo è lo stadio del «carcinoma», che è decisamente maligno. Il quinto e ultimo è dato dalla migrazione di cellule a organi lontani dal sito di origine, con la creazione di «metastasi»; questo è lo stadio di completa malignità. A ogni tappa si scopre la presenza di qualche nuovo gene alterato, cosicché allo stadio delle metastasi vengono riconosciuti quattro o cinque geni alterati, che includono almeno un oncogene; perciò la perdita di geni soppressori è l'elemento più importante nella progressione. Non c'è una corrispondenza precisa tra i vari stadi della progressione e la comparsa di certi geni alterati; quello che è costante è l'aumento progressivo del loro numero.

Risultati simili si sono ottenuti in altri cancri. In alcuni di essi, specialmente quelli originati da cellule del sangue (leucemie, linfomi) l'elemento principale è la formazione dell'oncogene; però successivamente ci sono altri cambiamenti, probabilmente in geni soppressori. Questa differenza tra i due tipi di cancro si può attribuire alla diversa struttura delle cellule: quelle del sangue sono libere e possono migrare in qualunque parte dell'organismo, mentre gli epiteli (come quello del colon) sono legati alla struttura dell'organo, e per liberarsi e infiltrare i tessuti circostanti o produrre metastasi devono smantellare molte delle loro strutture normali, il che evidentemente richiede cambiamenti di più geni. Nell'insieme il quadro che si ottiene è che il cancro è dovuto a una serie di fenomeni negativi, che progressivamente portano alla perdita dei meccanismi di controllo e delle strutture cellulari connesse. Questa conclusione è confermata da studi recenti sull'espressione dei geni nelle cellule del cancro del seno. Essi dimostrano che l'attività di molti geni è fortemente diminuita, indipendentemente dallo stadio di progressione. Tra questi geni sono, per esempio, quelli necessari per la differenziazione e per il controllo delle interazioni con cellule circostanti. Per altri geni si osserva l'opposto, cioè un aumento di attività; però i geni coinvolti sono diversi nei diversi

stadi del tumore. Questo fa pensare che, in tutti i casi, il cancro sia causato inizialmente dalla diminuzione o perdita di attività di un gruppo di geni, che includono quelli responsabili per la differenziazione delle cellule; in contrasto, i cambiamenti successivi sono causati, almeno in parte, dall'attivazione o aumento di espressione dei geni normalmente silenti o poco attivi, che variano da un caso all'altro o da uno stadio di progressione a un altro.

Le alterazioni del DNA

Il fatto che lo sviluppo di un cancro cominci per lo più con l'attivazione di un oncogene e poi con la perdita di parecchi geni soppressori ci dice molto sui processi che ne sono alla base. L'attivazione di un oncogene è un fenomeno semplice, che richiede una mutazione, un cambiamento di uno o più basi, perciò relativamente frequente; è anche un avvenimento dominante, per cui l'alterazione di un singolo gene è sufficiente a produrre l'effetto. Al contrario, la perdita di attività di geni soppressori è generalmente associata a cambiamenti molto più estesi, e per di più deve coinvolgere entrambe le copie dello stesso gene, in eventi diversi. Perciò è un cambiamento molto più profondo ed esteso.

La possibilità che si producano cambiamenti di questo tipo è connessa con l'elemento fondamentale dei cancri, cioè la formazione di profonde alterazioni del DNA, che diventa molto instabile. Infatti l'analisi del DNA presente nelle cellule cancerose dimostra una grande quantità di alterazioni, che vanno da mutazioni a perdite di segmenti, o allo spostamento di segmenti a località diverse, e anche a variazioni nel numero dei cromosomi. In condizioni di instabilità la perdita di due copie di un gene soppressore può avvenire molto più facilmente, il che spiega perché si osserva specialmente dopo la fase iniziale, quando i danni del DNA sono diventati parecchio evidenti.

Le alterazioni del DNA sono molto avanzate negli stadi più tardivi di un cancro, ma sono già presenti, sebbene meno estese, anche in quelli iniziali. La loro origine deve essere attribuita inizialmente all'azione dell'oncogene. Sebbene gli effetti più evidenti degli oncogeni abbiano a che fare con il controllo della moltiplicazione cellulare, essi hanno altri effetti, che sono meno ovvii, ma sono ancora più importanti per causare la trasformazione neoplastica delle cellule. Il significato dell'instabilità del DNA nell'origine

del cancro è messo in evidenza soprattutto dall'effetto di alterazioni geniche che impediscono la riparazione di danni del DNA dovuti o a cause fisiologiche, cioè difetti nella duplicazione, o ad agenti esterni, quali radiazioni o sostanze chimiche: tutte queste alterazioni inducono il cancro.

Al giorno d'oggi, alla luce dei risultati del Progetto Genoma, secondo cui i geni non agiscono in isolamento, ma in gruppi molto estesi, il comportamento dei geni nel cancro diventa più chiaro che non nel passato, quando si pensava a un gene per volta. Una prova a questo riguardo è stata ottenuta nello studio di molti tumori con il metodo dei *microarrays,* determinando la presenza di *clusters* di geni che rispondono in modo simile. Questi studi permettono di identificare gruppi diversi di geni attivi in cellule tumorali, separandoli da quelli attivi nelle cellule normali di vari tipi, che sono sempre presenti nei tumori. Con questo metodo, per esempio, è possibile distinguere linfomi (tumori di linfociti) con proprietà cliniche diverse, e anche con diversa risposta alle terapie.

Una sorpresa, direi anche una delusione, è che con questo metodo non si sono identificate alterazioni in qualche gene che possa essere ritenuto principalmente responsabile della malignità delle cellule. In passato si pensava che le proprietà delle cellule neoplastiche, come la capacità di infiltrazione o di produrre metastasi, fossero riconducibili all'aumento di attività di geni ben definiti, per esempio quelli specificanti proteine della superficie cellulare capaci di rompere le proteine circostanti la cellula, oppure alla perdita di attività di geni responsabili del mantenimento di legami tra cellule normali. Ma i risultati non identificano geni a cui si possa attribuire una funzione predominante. Questo potrebbe essere dovuto a una ragione tecnica, cioè che sui vetrini usati per i *microarrays* geni di tale tipo non sono rappresentati, perché ancora non ben noti; però ciò è inverosimile, perché già si conoscono molti geni con le funzioni descritte, ma senza un'azione predominante. L'interpretazione più verosimile è che negli stadi avanzati del cancro nessun gene predomina, cioè che tutti i cambiamenti sono dovuti alla somma di molte alterazioni che, attraverso la collaborazione reciproca, portano ai risultati osservati. Questi sono i geni identificati dai *clusters* dei *microarrays.*

Perciò ora il cancro si può definire come la conseguenza di un'alterazione globale del genoma, iniziato dai geni (di solito oncogeni) che modificano un controllo importante a livello del funzionamento di altri geni o dello stato del genoma. La progressione è poi tutta una serie di alterazioni che si aggiungono alle precedenti; e le più evidenti sono quelle

di geni che hanno un'influenza sullo stato delle cellule. Nella prima fase le alterazioni predominanti sono quelle che aboliscono le proprietà differenziative delle cellule, quali la regolazione della moltiplicazione, o l'interazione con cellule circostanti. Nella fase ulteriore compaiono nuove funzioni, quali la produzione di fattori angiogenici o di enzimi capaci di distruggere le strutture circondanti le cellule che normalmente ne impediscono la migrazione. L'ultima fase nella progressione del cancro è la formazione di metastasi, cioè lo sviluppo di tumori disseminati in organi diversi, quali il midollo osseo o i polmoni. La disseminazione a un dato organo richiede l'attivazione di geni che permettono alle cellule cancerose di aderire in modo selettivo alla superficie interna dei capillari sanguigni di quell'organo, e poi di penetrare in esso. Alla fine il processo diventa autonomo, una specie di destino immodificabile. È un processo che evolve in modo caotico, partendo da un'alterazione iniziale di per sé poco significativa, ma poi espandendosi in modo in gran parte imprevedibile, nei limiti imposti dalla regolazione globale dei geni nelle cellule colpite. Un processo che coinvolge quindi moltissimi geni, sebbene alcuni possano essere più evidenti di altri. Concetto, questo, fondamentale per le possibili terapie del cancro.

Lo stato finale delle cellule è determinato dal complesso dei geni attivi, e può variare da un caso all'altro. Per esempio, alcuni cancri sono più aggressivi di altri, alcuni rispondono alla terapia, mentre altri sono resistenti. Perciò il complesso dei geni attivi può avere un importante significato clinico. Questo è dimostrato da studi su un gran numero di casi dello stesso cancro basati sui *microarrays,* in cui si sono identificati i geni che o hanno perso attività rispetto a cellule normali oppure l'hanno aumentata. Poi si sono identificati i geni che hanno lo stesso cambiamento in gruppi di casi che hanno caratteristiche cliniche diverse. Si è arrivati così a identificare un piccolo numero di geni, in cui l'alterazione di espressione è correlata con alcune caratteristiche cliniche dei cancri, quali l'aggressività o la risposta alla terapia. Questi gruppi di geni vengono definiti come «modelli predittivi». Tali modelli sono stati prodotti per parecchi cancri, per esempio il cancro del seno, la leucemia mieloide, una forma di linfoma. Nella pratica clinica questi modelli predittivi vengono associati con altri modelli già stabiliti, basati su altre variabili; ne risulta un miglioramento della diagnosi dei differenti casi di uno stesso cancro, la loro prognosi e una definizione più precisa della terapia più adatta. Certamente in futuro ci saranno importanti sviluppi in questa direzione.

Geni predisponenti

Un ruolo importante, specialmente da un punto di vista clinico, lo hanno le alterazioni di geni che aumentano la probabilità del portatore di sviluppare un cancro. Geni di questo tipo, detti «predisponenti», si conoscono per molti cancri, specialmente quelli del colon e del seno. La loro presenza era stata preannunciata già da tempo da osservazioni epidemiologiche che dimostravano una maggior tendenza allo sviluppo di un certo cancro in individui nella cui famiglia c'erano stati altri membri con lo stesso tipo di cancro. Ora parecchi geni di quel tipo sono stati identificati. La probabilità di cancro del seno in una donna che abbia un'alterazione nel gene BRCA1 (un soppressore) ammonta a circa l'80%, perciò quasi a una certezza. Questo gene ha un ruolo nel mantenere lo stato del DNA; il suo effetto è concentrato sulle cellule mammarie e ovariche per ragioni non ben chiare. Anche il gene p53, che ha un ruolo diretto nella progressione dei cancri, può essere predisponente in individui che ne ereditano una copia alterata. Essa dà luogo alla «sindrome di Lee-Fraumeni», in cui c'è la tendenza allo sviluppo in giovane età di cancri di vari organi. L'incidenza dei tumori è comunque bassa, probabilmente perché l'alterazione del gene diventa importante solo quando qualche altro meccanismo produce danni del DNA.

La scoperta di geni predisponenti a varie forme di cancro è basilare per decifrare il meccanismo per cui il cancro insorge, ma non sempre è d'aiuto per il paziente. Infatti, se una donna sa di avere ereditato il gene BRCA1, che cosa può fare? Potrebbe usare tutti i metodi a disposizione per riconoscere la presenza di un cancro il più precocemente possibile, ma l'efficacia di tali metodi è solo parziale. Perciò essa vivrebbe sotto l'incubo continuo di diventare vittima di un cancro. Alcune donne in queste condizioni prendono una decisione drastica, quella di farsi asportare entrambe le mammelle in via preventiva; ma anche questo intervento, sebbene molto efficace, non dà il 100% di sicurezza. Sembra perciò che non ci sia un vantaggio assoluto per una donna proveniente da una famiglia in cui il cancro è stato frequente di sottoporsi all'esame del gene, almeno finché non si svilupperanno mezzi per inattivarlo o correggerlo se è alterato. Le possibilità che questo avvenga in breve tempo è buona, dato il grande aumentare delle conoscenze sui geni e delle tecnologie connesse.

La situazione è parecchio diversa per chi si ammala di un altro cancro, quello del colon che inizia con la formazione di polipi; in una parte dei casi esso ha natura familiare, ed è dovuto alla trasmissione di un gene, APC, che può dare il via al processo tumorale. In questi pazienti si possono attuare metodi efficaci di prevenzione, che consistono in parte nell'uso regolare di farmaci simili all'aspirina, che tendono a bloccare un meccanismo importante per l'azione del gene, e in parte all'esame del colon con la colonscopia. A differenza del cancro del seno, che è dimostrabile solo quando, in una fase già avanzata, ha formato un nodulo abbastanza importante, le fasi iniziali del cancro del colon, cioè i polipi e gli adenomi, sono riconoscibili con la colonscopia. Per cui, se si scopre un cancro incipiente, si ricorre alla chirurgia che lo può eliminare totalmente.

C'è una connessione tra cellule staminali e cancro?

Un elemento che potrebbe aiutare a comprendere l'evoluzione del cancro è il tipo di cellule in cui esso si sviluppa. In genere, le cellule di un cancro hanno somiglianze con cellule dell'organo da cui derivano, ma sono anche molto diverse da loro, per esempio non hanno molti dei loro caratteri differenziativi. In questi ultimi anni è stata riconosciuta in parecchi tipi di cancri la presenza di cellule con le caratteristiche delle cellule staminali dell'organo in qui il cancro si sviluppa. Per esempio in tumori del cervello che si sviluppano nei bambini lo studio dell'espressione dei geni mostra che le cellule del tumore esprimono molti geni caratteristici delle cellule staminali neurali. Quest'osservazione pone la domanda se il cancro derivi da cellule staminali in cui i geni sono stati alterati.

Questo sembra possibile perché cellule staminali e cellule cancerose hanno alcune proprietà in comune. Una delle più importanti è che entrambi i tipi di cellule possono moltiplicarsi indefinitamente nell'ambiente da cui esse derivano, una proprietà che non è condivisa da nessun'altra cellula. Per fare ciò esse devono mantenere i loro cromosomi intatti, ricostruendo periodicamente i telomeri alle loro estremità. Per questo scopo, entrambi i tipi di cellule mantengono permanentemente l'enzima che ricostruisce i telomeri, la telomerasi, in stato attivo. Anche questa caratteristica non è condivisa da altre cellule.

Un altro punto rilevante è l'espressione dei geni nelle cellule del cancro del seno: come già ricordato, negli stadi iniziali dello sviluppo del cancro

quasi tutti i geni che esprimono lo stato differenziato nelle cellule normali del cancro sono inattivi nelle cellule cancerose, appoggiando l'idea che le cellule cancerose derivano da un tipo cellulare diverso da quelli esistenti nell'organo. Una caratteristica comune delle cellule del cancro e le cellule staminali è che entrambe dipendono dalle cellule circostanti per la loro funzione. Questo è già stato messo in evidenza per le cellule staminali. Recentemente tale dipendenza è stata dimostrata per le cellule del cancro: in sistemi sperimentali si è osservato che alterando i geni delle cellule che sono in contatto con le cellule epiteliali, queste ultime possono diventare cancerose anche se i loro geni non sono stati danneggiati.

Se la connessione tra cellule staminali e cancerose verrà confermata da ulteriori ricerche, essa cambierà le nostre idee sul cancro, e potrà aprire nuove vie per studiarlo e possibilmente controllarlo.

Le terapie

Le nuove conoscenze circa i meccanismi del cancro sono rilevanti ai fini dei metodi di terapia che si potranno sviluppare. I metodi classici, basati su chirurgia, radioterapia e chemioterapia, continueranno a esistere e a migliorare, perché essi hanno dato prova della loro efficacia in molti tipi di cancro. Ma ora si stanno perseguendo anche nuove direzioni orientate verso geni o proteine specifiche delle cellule cancerose.

La possibilità di una terapia genica del cancro è già stata considerata da molto tempo come parte dello sviluppo generale di tale terapia. Però questo sviluppo è stato rallentato da una serie di fallimenti. Recentemente si è avuto un miglioramento, dovuto all'analisi delle difficoltà precedenti, e sono stati registrati alcuni successi. I tentativi fatti in passato si dirigevano a introdurre nelle cellule cancerose geni che ne provocassero la morte oppure geni che ne aumentassero la capacità di suscitare una risposta immunologica.

I metodi basati sull'uccisione delle cellule non hanno dato risultati positivi per una ragione fondamentale: che è stato impossibile introdurre il gene in tutte le cellule del cancro, molte delle quali sono disperse nell'organismo. Il metodo diretto ad aumentare la risposta immunologica ha dato invece risultati incoraggianti negli animali e anche in pazienti, specialmente quelli affetti da melanoma (un cancro della pelle). Questi studi sono basati sull'idea che le cellule tumorali, a causa dei grandi

cambiamenti del DNA, contengono proteine che non sono normalmente presenti, e perciò dovrebbero essere riconosciute come estranee all'organismo dal sistema immunitario del paziente, e quindi essere distrutte. Ma questo non succede. Una ragione è che le cellule del sistema immunitario, per esercitare il loro compito, devono ricevere dalle cellule estranee due segnali: uno che indica la presenza di proteine anormali, l'altro che le attiva a sviluppare la capacità distruttiva. Le cellule del cancro hanno invece la prima proprietà, ma non la seconda. Ora, è noto che questa seconda proprietà dipende dall'attività di geni che già conosciamo; perciò l'idea è quella di inserire uno di tali geni nelle cellule cancerose, e poi introdurre tali cellule nello stesso paziente, dove dovrebbero agire come un vaccino contro il cancro. Infatti, quando una cellula del sistema immunitario del paziente incontra la cellula modificata, ne dovrebbe ricevere entrambi i segnali, venendo attivata a moltiplicarsi: tutte le cellule così prodotte andrebbero poi in giro per il corpo distruggendo le cellule cancerose ovunque le incontrano. Infatti la vaccinazione dei pazienti affetti da melanoma con cellule del tumore così modificate e inattivate da radiazioni, causa la produzione di anticorpi specifici e di cellule immunitarie di vario tipo, anch'esse specifiche. In alcuni casi la vaccinazione causa una distruzione parziale di metastasi del tumore; e il persistere con questa terapia può permettere al paziente con melanoma metastatico di sopravvivere alcuni anni. La terapia poi diventa inefficiente quando appaiono cellule senza quella proteina, oppure con la proteina alterata.

Per alcuni tipi di tumore, le cui cellule esprimono sulla superficie particolari proteine, è possibile una terapia immunologica che utilizzi anticorpi diretti contro la proteina stessa. Questo è il caso di una frazione dei cancri del seno che hanno la proteina ERBB2; e infatti un anticorpo specifico per questa proteina viene già usato come farmaco, e i primi risultati sono buoni. Però è possibile che ci siano cellule, inizialmente in minoranza, che non presentano quella proteina e che potrebbero poi ricostituire il tumore. Solo l'esperienza ci potrà dire se questa è una preoccupazione seria.

Una nuova strada nella terapia del cancro è stata aperta dalla recente produzione di un farmaco, chiamato Gleevec, che è attivo contro un tipo di tumore noto come «leucemia mieloide cronica». La leucemia è dovuta a uno scambio tra due cromosomi (quelli indicati con i numeri 9 e 22), che porta alla formazione di un nuovo gene risultante dall'unione di parte di un

gene presente sul cromosoma 9 con parte di uno presente sul cromosoma 22. Uno dei geni coinvolti nello scambio ha due «braccia», di cui uno causa la formazione di una proteina - un enzima - che attacca il fosfato ad altre proteine, una funzione importante, perché il trasferimento del fosfato regola la moltiplicazione della cellula. Normalmente l'attività dell'enzima è regolata dall'altro «braccio» del gene, in modo che risponda alle necessità della cellula. Dopo lo scambio di parti tra i due cromosomi, il nuovo gene contiene il braccio che causa la formazione dell'enzima, ma non quello che la regola, per cui l'enzima diviene continuamente attivo. Questo causa una moltiplicazione sregolata della cellula, che contribuisce a renderla leucemica.

Recentemente, la conoscenza del meccanismo d'azione dell'enzima ha portato alla produzione del farmaco Gleevec, che è capace di bloccarne l'azione. Questo farmaco si lega all'enzima, e così impedisce il trasferimento del fosfato ad altre proteine: con ciò esso elimina l'attività dell'oncogene. L'azione del farmaco è limitata a questo enzima: esso non agisce su altri enzimi con una funzione simile che differiscono in importanti dettagli di struttura. Perciò il farmaco ha un'azione specifica sulle cellule in cui è avvenuto lo scambio dei cromosomi, cioè quelle che danno luogo alla leucemia mieloide cronica. Quasi tutti i pazienti nella fase iniziale della malattia rispondono al trattamento con il farmaco, e parecchi sono già stati bene per oltre due anni, un risultato veramente notevole.

Com'è comune nei cancri, si osserva che con il tempo alcuni pazienti diventano resistenti al farmaco. Ciò è dovuto a nuove mutazioni del gene, per cui il farmaco non può più associarsi all'enzima. Sembra che questo problema possa essere superato con l'aggiunta di un altro farmaco, ancora in fase esplorativa, che agisce sull'enzima con mutazioni che lo rendono resistente al Gleevec, bloccandone l'azione. I risultati ottenuti sono molto incoraggianti. Questo risultato è non solo molto importante per i pazienti, ma è anche una dimostrazione del grande potere del nuovo approccio nella composizione dei farmaci diretti a proteine che hanno un ruolo centrale in vari cancri, impostato sulle profonde conoscenze delle funzioni delle proteine, basate sulla loro struttura. Questo è probabilmente il futuro della lotta contro i tumori.

Recentemente è stato provato che il farmaco Gleevec è anche molto attivo contro un raro tumore dello stomaco, che insorge da cellule dello stroma. Probabilmente le cellule di questo tumore sono attivate da un

enzima con caratteristiche simili a quello della leucemia.

Ora c'è un altro problema. Sulla base di quel che si è detto sul cancro, sembrerebbe che l'inattivazione dell'oncogene non dovrebbe essere sufficiente ad arrestare il progresso della leucemia quando essa è già abbastanza avanzata, perché a quel punto ci dovrebbero essere alterazioni di altri geni. Ma nel caso del farmaco Gleevec l'effetto curativo potrebbe essere attribuito a due punti in cui le leucemie croniche differiscono da altri cancri, specialmente quelli che derivano da epiteli, cioè i «carcinomi», come il cancro del seno e dell'intestino. Una differenza, già messa in evidenza più sopra, è che le cellule epiteliali sono normalmente parte di strutture molto stabili, mantenute da forti legami di vario tipo tra le cellule. Perché queste acquistino indipendenza, come avviene nel cancro, tutti questi legami devono essere eliminati, il che richiede la perdita di attività di molti geni; e, inoltre, geni con altre funzioni diventano attivi quando non lo dovrebbero. In contrasto, le cellule del sangue, da cui originano le leucemie, sono già libere, e per diventare capaci di comportarsi come cellule leucemiche devono solo perdere la regolazione della loro moltiplicazione, che può essere causata dall'attività di un singolo oncogene.

Un altro elemento è che, quando si fa la diagnosi di leucemia cronica, le cellule leucemiche sono di solito in uno stadio iniziale, e vi rimangono per molto tempo, anche dopo che si è fatta la diagnosi della malattia; solo molto più tardi esse vanno incontro a cambiamenti addizionali che provocano l'insorgenza di una «leucemia acuta», in cui le cellule diventano molto più simili a quelle di altri cancri. Al contrario, nei carcinomi, quando si fa la diagnosi il processo è di solito già molto avanzato, con alterazioni in numerosi geni. Perciò nella leucemia cronica si ha a che fare con un processo iniziale, mantenuto dall'attività dell'oncogene, e che perciò può essere arrestato bloccando l'oncogene. Queste considerazioni forse possono essere applicate all'altro tumore curato dal Gleevec, che è un tumore non epiteliale di cui si sa ben poco.

Un'estensione dell'indirizzo seguito nel produrre il farmaco Gleevec ha portato allo sviluppo di un altro farmaco diretto al cancro del polmone, che è uno dei cancri più difficili da curare. Questo farmaco (Iressa) è disegnato per bloccare l'interazione di un fattore di crescita, essenziale per la crescita delle cellule, con le cellule stesse. Purtroppo il farmaco è molto efficace in una minoranza di pazienti. La ragione di questa limitazione è ora nota: il farmaco è efficace solo in casi in cui il ricettore, che deve interagire con il

fattore di crescita, ha un'irregolarità, una mutazione. Malgrado questa limitazione, lo sviluppo di questo farmaco è un notevole progresso nel controllo di questo cancro; esso porterà allo sviluppo di altri farmaci analoghi che possono agire anche sulle cellule che non hanno irregolarità nel ricettore. Inoltre il principio seguito nello sviluppo di questo farmaco apre un'area più vasta di intervento, perché fattori di crescita simili a quello mirato qui hanno un ruolo importante nello sviluppo di molti cancri.

Un'altra forma di terapia promettente è quella diretta contro i vasi sanguigni che irrorano il tumore, la cosiddetta terapia «antiangiogenesi», basata sul fatto che una massa tumorale deve attrarre vasi sanguigni dai tessuti normali circostanti per nutrirsi e sopravvivere. Molti tentativi clinici basati su questa idea sono attualmente in corso, e i risultati sono promettenti, sebbene non così radicali come alcuni inizialmente credevano. Per esempio, un anticorpo che blocca l'azione di un importante fattore angiogenico può aumentare di cinque mesi la sopravvivenza di pazienti con tumori metastatici del colon. Il risultato è solo parziale, perché parecchi fattori sono coinvolti nello sviluppo dei vasi sanguigni, e inattivarne uno solo non è sufficiente. Bisogna anche tener presente che la terapia angiogenica può colpire i vasi in via di formazione, non quelli già stabiliti. Anche con questa limitazione l'indirizzo potrebbe essere molto utile per impedire la formazione di nuove masse tumorali, cioè le metastasi, che sono la causa principale della malignità dei cancri.

Una nuova direzione nello sviluppo di farmaci contro i cancri è rivolta ad attivare il meccanismo di morte fisiologica che normalmente viene mantenuto, in cellule normali, dal gene p53, che è di solito assente nei cancri. Provocare la morte fisiologica è ora possibile perché molti dei fattori coinvolti in questo meccanismo sono noti, ed è possibile progettare molecole che lo possano attivare in assenza della funzione del gene p53. Per ora l'effetto di queste molecole viene studiato in modelli animali (topi), in cui si dimostrano molto efficaci, specialmente contro cancri disseminati. In uno di questi modelli animali il farmaco ha prolungato la vita da 11 a 70 giorni, rispetto ai controlli, e in un altro gli animali trattati sono sopravvissuti 150 giorni, in paragone ai 35 dei controlli. Questi dati sono molto promettenti.

Tutti questi sforzi e i loro risultati sono molto incoraggianti, e fanno sperare che nuove, efficaci terapie contro il cancro presto saranno a disposizione dei pazienti.

Il futuro

Il futuro delle ricerche sui geni

La visione dei geni dopo il Progetto Genoma

Il cambiamento più importante frutto della conoscenza dei geni e dello studio delle loro attività in molti tipi di cellule è il passaggio dal concetto di gene singolo come unità funzionale a quello di complessi di geni che partecipano insieme alla risposta ad agenti stimolanti, a cambiamenti ambientali o a variazioni dello stato delle cellule. È anche diventato chiaro che l'insieme dei geni di un organismo è un sistema molto eterogeneo dal punto di vista funzionale, perché i complessi sono molto diversi. A un'estremità stanno i geni che agiscono essenzialmente da soli e danno luogo alle malattie ereditarie monogeniche. Essi sono in piccolo numero ed espletano funzioni che non possono essere sostituite dall'azione di altri geni, specialmente in catene biochimiche essenziali, come quella che dà luogo alla coagulazione del sangue, o che producono sostanze indispensabili per l'organismo. All'altra estremità ci sono i geni che danno luogo a malattie multigeniche; essi operano in grandi complessi, tanto nei fenomeni di differenziazione che avvengono durante lo sviluppo, quanto nel funzionamento dei vari organi. Si capisce che ci vogliono molti geni in stretta cooperazione per controllare questi fenomeni, perché sono molto complessi e devono essere accuratamente regolati per quel che riguarda l'espressione sia nello spazio sia nel tempo. La transizione tra questi due gruppi di geni avviene in modo continuo, attraverso gruppi di varie dimensioni. Al momento sappiamo ben poco dei dettagli dell'azione dei vari gruppi, ma questo soggetto sarà studiato alacremente nel futuro.

C'è una grande varietà di ruoli nei geni di un organismo: in aggiunta alle differenze dimostrate dalle malattie che essi inducono quando sono alterati, altre differenze si osservano nel loro normale funzionamento. Così, si osserva abbastanza spesso che l'eliminazione di un gene nel topo attraverso la procedura del *knock out* non produce alcun effetto evidente nell'animale. Per spiegare questo risultato si prospettano due possibilità. Una è che la funzione di quel gene sia sostituita da un altro gene, come già

menzionato. Nelle catene di reazioni biochimiche ci sono spesso delle deviazioni possibili, magari all'inizio della catena, per cui la funzione mancante può essere fornita dal gene collaterale. Un esempio si trova in un batterio con un'alterazione in un gene chiave nella catena di reazioni per la produzione di energia; l'alterazione dovrebbe essere letale, invece non lo è perché la sostanza che avrebbe dovuto essere utilizzata dall'enzima prodotto dal gene alterato viene utilizzata da un altro enzima in una catena diversa, il cui prodotto viene poi riversato nella catena con l'enzima deficiente. Così la mancata attività dell'enzima viene aggirata. L'altra possibilità è che il gene in questione sia destinato a funzionare solo in condizioni ambientali anomale, come per esempio mancanza di cibo o presenza di sostanze tossiche. Situazioni di questo tipo sono state osservate nel lievito e in altri organismi. Anche queste interazioni saranno studiate, perché la loro conoscenza potrà essere utile sia per la caratterizzazione precisa delle malattie, sia per le possibilità di nuovi sviluppi terapeutici basati su di esse.

Un'ulteriore indicazione di complessità è che anche in genomi semplici, come quello del lievito, c'è un buon numero di geni le cui funzioni sono tuttora ignote. Probabilmente essi producono proteine che partecipano agli intricati meccanismi di controllo dei geni in condizioni varie. La complessità è indicata anche dall'osservazione che quando c'è un cambiamento dello stato di una cellula, per esempio sotto l'azione di una sostanza tossica, c'è una risposta che coinvolge molti geni. Essi possono agire per produrre sostanze che combattono il cambiamento, oppure per attivare la morte della cellula danneggiata, oppure possono inattivare meccanismi di difesa, che sono numerosi. Una situazione simile si osserva nel cancro: comincia con l'alterazione di un gene, seguita subito dopo da quella di molti altri geni. Perciò è difficile individuare un gene che sia principalmente responsabile della progressione del cancro. Ci sono inoltre alterazioni estese del DNA che provocano reazioni in molti geni; reazioni generalmente connesse con lo stato di differenziazione delle cellule, perché i meccanismi di controllo delle funzioni cellulari variano a seconda di tale stato, ed è il fallimento di simili controlli che contribuisce alla degenerazione delle cellule.

I geni nell'agricoltura

Questo è un campo di grande interesse, in cui sono già avvenute scoperte affascinanti, e che avrà un ruolo molto importante per il futuro dell'umanità. È anche un campo molto complesso perché, oltre agli interessi in termini di conoscenza, ce ne sono anche molti commerciali, e, come vedremo, i due sono talvolta in contrasto.

La sequenza completa è stata determinata per alcune piante, come il riso, che è importante per il suo esteso uso come cibo, e un'erbetta della famiglia della senape, chiamata *Arabidopsis,* che è usata in tutto il mondo come modello per studiare la biologia delle piante. Il sequenziamento di altre piante è in corso. l'*Arabidopsis* ha circa 25.000 geni, molti dei quali sono duplicati: eliminando le duplicazioni il numero è di circa 15.000. Non ci sono piani per sequenziare il genoma del grano o quello del granturco, malgrado la loro grande importanza, perché sono enormi, e si possono conoscere lo stesso molte delle loro proprietà attraverso i risultati ottenuti con gli altri genomi. Il granturco ha un genoma vasto quanto quello umano, il grano ne ha uno che è quattro volte tanto. La loro enorme grandezza è dovuta a due fattori: uno è che le piante hanno spesso parecchie copie di un genoma, l'altro che i genomi di queste piante contengono enormi quantità di sequenze non codificanti, quelle a cui spesso ci si riferisce come immondizia.

I risultati ottenuti con l'*Arabidopsis* sono molto importanti perché i geni di questa piccola pianta sono simili a quelli di altre piante che sono più difficili da sequenziare. Queste somiglianze già stanno dando frutti; per esempio, studiando i geni dell'*Arabidopsis* è stato possibile scoprire il gene che causa la formazione di piante di grano «nane», che furono circa un secolo fa la base della «Rivoluzione Verde»; essa portò allo sviluppo di piante di vari tipi di graminacee, incluso il riso, che spendono meno energia nel produrre foglie, concentrandola nel produrre i grani. Lo sviluppo di queste piante con un trasferimento di geni allora sconosciuti ha contribuito fortemente a soddisfare i bisogni di alimentazione nel mondo. Altri geni importanti per lo sviluppo delle piante sono stati già scoperti, e altri seguiranno, con una forte influenza nell'agricoltura. Molti sforzi si stanno ora concentrando sui geni del riso perché questo è l'elemento nutritivo più importante del mondo, visto che è la base alimentare di tre miliardi di persone. È per ciò che si è fatto uno sforzo per produrre piante di riso geneticamente modificate in modo da arricchirlo di sostanze che

sono spesso carenti nella dieta dei paesi poveri, quali la vitamina A e il ferro. La carenza di vitamina A è causa di cecità nei bambini del terzo mondo, e potrà essere eliminata usando il cosiddetto «riso dorato», che è stato modificato in modo da contenere un'alta quantità di un precursore di tale vitamina, che genera quando viene usato come alimento. C'è purtroppo ancora un problema su questo punto: che per trattenere la vitamina nel corpo ci vogliono dei grassi, che però sono molto limitati negli stessi paesi. Comunque è un passo avanti, e un altro passo utile lo seguirà.

Le modificazioni genetiche nelle piante

I metodi per isolare i geni da un organismo e farli funzionare in un sistema artificiale dove possono produrre la loro proteina in grande quantità sono stati messi a punto una trentina di anni fa come parte dello sviluppo dell'ingegneria genetica. Queste tecniche nel passato sono state applicate a molti tipi di organismi - batteri, animali, piante - con notevole successo. Infatti molte medicine che usiamo oggi sono state ottenute da geni umani o animali con queste procedure.

Con l'estesa conoscenza dei geni di molte specie, i risultati pratici ricavabili da questa tecnica aumenteranno notevolmente. Certo si produrranno molti nuovi farmaci, diretti alla funzione di geni specifici; e importanti sviluppi si avranno nell'agricoltura, specialmente per ciò che riguarda i cibi. Però questa tecnologia ha incontrato molta resistenza nel pubblico, suscitando sospetti e antagonismi.

Nel passato le modificazioni genetiche nel campo dell'agricoltura hanno avuto un ruolo importante, perché tale attività è essenziale per la sopravvivenza della specie umana, come si può riconoscere dai dati drammatici sulle conseguenze della sua insufficienza. Uno di questi dati è che oggi 800 milioni di persone non hanno accesso al cibo in quantità sufficiente. L'altro dato è che la malnutrizione ha un ruolo significativo nella morte di 6 milioni di bambini ogni anno nei paesi del terzo mondo.

Il terreno in questi paesi è già coltivato intensivamente, perciò non si può sfruttarlo ulteriormente. Per migliorare la situazione bisogna aumentare la produzione per ettaro; per questo scopo da tempo sono state effettuate manipolazioni genetiche sulle piante con tecniche classiche, cioè scegliendo piante con caratteristiche particolari, incrociandole e poi selezionando i campioni desiderati. Questo approccio ha raggiunto il suo

culmine nella Rivoluzione Verde, che ha aumentato in modo clamoroso la produzione di riso e grano, specialmente in India, Cina e altri paesi.

Però, malgrado questi progressi, la produzione di alimenti nel mondo, dopo aver raggiunto un massimo verso il 1990, sta ora diminuendo dell'1% annuo; ciò è dovuto in parte a fattori biologici, quali la presenza di parassiti e malattie delle piante, e in parte a fattori ambientali, quali la salinità del terreno e la sua aridità. Ora questi problemi vengono affrontati costruendo, con l'aiuto dell'ingegneria genetica, piante geneticamente modificate. Con questa tecnica le modificazioni genetiche sono prodotte, fondamentalmente, con i metodi tradizionali, cioè con scambi di geni, ma in modo più diretto e con una conoscenza molto più completa degli obbiettivi. Il risultato finale è simile a quelli ottenuti con i metodi classici: per esempio, l'introduzione nel riso di geni che causano la formazione di piante nane produce gli stessi risultati della selezione usata nella Rivoluzione Verde; ma si possono produrre cambiamenti in maggior numero e in un tempo molto più breve.

Con i metodi dell'ingegneria genetica si sono sviluppate piante con caratteristiche nuove, specialmente in tre direzioni: un'aumentata vita dei frutti raccolti (per esempio pomodori), un'aumentata resistenza a parassiti, a virus o a condizioni ambientali sfavorevoli, e una maggiore tolleranza agli erbicidi.

La produzione di piante resistenti a virus può essere molto efficace, come dimostrato dall'introduzione di piante di riso resistenti a un virus che devastava le coltivazioni in Africa. La produzione di piante capaci di produrre una tossina che uccide gli insetti parassiti ha ridotto in modo significativo l'uso di pesticidi negli Stati Uniti: la quantità usata per crescere le piante di cotone è diminuita di un milione di chilogrammi nel 1999.

Tra i risultati ottenuti per combattere fattori ambientali sfavorevoli si annovera la produzione di piante che resistono alla presenza di alluminio nel suolo e di piante di granturco che tollerano una eccessiva salinità e alcalinità del terreno. Si è fatto un grande progresso nel problema della carenza di vitamina A con l'introduzione di tre geni nelle piante di riso, che ora producono riso dorato ricco di un precursore di tale vitamina. E anche il problema della deficienza di ferro, che causa anemia specialmente in donne in gravidanza e bambini, può essere controllato dalla produzione di riso modificato che contiene da 2 a 4 volte più ferro che non quello normale.

Obbiezioni

Si può concludere che i metodi transgenici usati nell'agricoltura possono arrecare benefici notevoli. Però questi metodi sono fortemente contrastati dal pubblico. Si adducono varie ragioni: le possibili reazioni allergiche causate dai prodotti usati come cibo, la possibile produzione di sostanze tossiche, l'uso di geni che conferiscono resistenza ad antibiotici utilizzati come marcatori durante il processo di modificazione, la possibilità di danni ambientali.

In relazione ai primi due punti (allergia e tossicità) i timori sono eccessivi, perché alcune piante modificate sono già state coltivate su 30 milioni di ettari, e i loro prodotti consumati da centinaia di milioni di persone, specialmente negli Stati Uniti e in Giappone, senza che si sia identificato alcun problema associato con il loro uso. E nel granturco ottenuto da piante modificate non si sono trovate sostanze che causano allergia. In relazione al terzo punto (resistenza agli antibiotici), la preoccupazione è che l'uso su larga scala di antibiotici come marcatori per seguire il gene durante il suo trasferimento possa causare lo sviluppo di resistenze nei microbi patogeni a cui gli antibiotici stessi sono diretti per trattare malattie umane. Per ovviare a questo pericolo, si stanno modificando le procedure per il trasferimento dei geni. Ma il pericolo maggiore in questa direzione è l'uso incontrollato di antibiotici nell'allevamento di animali destinati all'alimentazione, e nessuno se ne preoccupa.

Razionalmente, si può dire che non c'è prova dei pericoli temuti: però il pubblico tende a non credere agli scienziati o agli enti di controllo che fanno le dichiarazioni. Perciò è necessario che si istituiscano sistemi di controllo adeguati con lo scopo specifico di identificare ogni effetto negativo di piante geneticamente modificate sulla salute umana.

L'ultima fonte di preoccupazioni è l'impatto delle piante modificate sull'ambiente. Si teme che i geni introdotti possano passare ad altre piante, per esempio erbacce invasive, rendendole resistenti a pesticidi o malattie, e perciò favorendone la proliferazione. Queste sono possibilità reali, ma l'importante è stabilire, con studi appropriati, se causano problemi tali da costituire una minaccia seria per l'ambiente.

Il ruolo delle aziende private

Una fonte differente di preoccupazioni è la forte dipendenza delle ricerche da aziende private. In alcuni paesi molta ricerca viene portata avanti da istituzioni pubbliche, ma è prevalentemente una ricerca di base; invece la maggioranza degli studi sulle applicazioni pratiche è nelle mani dei privati. Perciò lo sviluppo delle applicazioni è governato dalle forze del mercato, che non operano a favore dei consumatori. Per compensare questo aspetto bisogna che gli enti pubblici aumentino il loro contributo a questi sviluppi, con particolare enfasi su ciò che concerne le piante che producono i cibi più generalmente usati, specialmente nei paesi poveri.

Uno dei problemi connessi con il ruolo dei privati è la possibilità di brevettare i risultati ottenuti. Le aziende private hanno bisogno di questa protezione per sviluppare nuovi prodotti, che richiedono investimenti molto forti sia di attività sia di denaro. Non ci sarebbero problemi se i brevetti fossero assegnati in modo molto oculato, limitato esclusivamente alle nuove invenzioni. Certo non si dovrebbe brevettare un gene solo sulla base della sua identificazione nella sequenza del DNA, senza che ci sia una vera invenzione; purtroppo c'è oggi la tendenza a usare tale scoperta come ragione per un brevetto. Il conferimento eccessivo di brevetti è dannoso per il terzo mondo, perché può limitare lo sviluppo di piante mirate specialmente ai loro bisogni. Infatti ci sono molti esempi di progetti diretti a produrre vegetali modificati per l'uso nel terzo mondo, in cui però le procedure da usare erano coperte da così tanti brevetti che la ricerca è stata abbandonata. Nel caso del riso dorato, la ricerca era coperta da una settantina di brevetti; fortunatamente, le aziende che li detenevano li hanno concessi senza pagamento, purché il prodotto fosse distribuito gratuitamente.

Un altro problema è quello dell'origine delle sementi. Gli agricoltori acquistano semi da ditte specializzate che li garantiscono privi di agenti patogeni, parassiti e semi di erbacce. Per esempio, molti agricoltori acquistano semi di granturco ogni anno, perché essi risultano da incroci effettuati annualmente dall'azienda, e, se usati per una seconda generazione, perdono vigore. Perciò in questo caso i coltivatori dipendono da terzi per continuare a produrre i loro raccolti. Invece, per la soia, molti agricoltori usano i semi prodotti in successive generazioni nei loro campi finché il raccolto ottenuto comincia a diminuire; essi sono perciò meno

dipendenti dalle ditte, almeno temporaneamente. Ma questa pratica è economicamente dannosa per i produttori di semi.

Per mantenere il suo predominio, un'azienda ha prodotto piante modificate in modo tale che i semi si sviluppano solo se questi o le piante vengono esposti a certi attivatori chimici. Inoltre, le piante che si sviluppano dopo l'esposizione producono sì semi, che però sono sterili: è la cosiddetta *terminator technology*. Questa tecnologia, che potrebbe anche avere degli aspetti utili, è stata fortemente contrastata perché tende a imporre un controllo assoluto sulla coltivazione di un certo raccolto, e la ditta che l'aveva proposta l'ha abbandonata.

Un punto interessante è che le preoccupazioni generate in questo campo sono in grande contrasto con l'accettazione dei prodotti ottenuti con procedure simili nel campo dei medicinali. La ragione non è rappresentata dalla procedura, che è la stessa in entrambi i casi, ma dai suoi risultati. I medicinali offrono un vantaggio al consumatore, vantaggio che è obbiettivamente determinabile, mentre i cibi modificati non ne presentano nessuno, nemmeno nel costo, che è essenzialmente simile a quello dei cibi convenzionali. Il vantaggio è tutto per i produttori di semi e gli agricoltori. In queste condizioni non c'è stimolo a preferire i cibi modificati e di conseguenza quando cominciano a circolare voci che essi presentano rischi, si crea una forte risposta negativa.

Ma il problema del rischio di per sé non è importante come può sembrare. La gente non si cura del rischio di un'attività se la ritiene gradevole o importante. Si consideri, per esempio, l'uso dell'automobile, il cui peso nell'inquinamento atmosferico è evidente, o l'uso del telefono cellulare, a cui sono stati attribuiti rischi possibili. Nel caso dei cibi modificati forse i pericoli verrebbero dimenticati se si presentassero dei vantaggi evidenti al consumatore, per esempio, nel gusto, nel modo d'uso, o altro. Ma ciò non viene fatto, e allora il rischio diventa l'elemento predominante. Questa situazione può cambiare se, per esempio, il riso ricco di vitamina A e di ferro sarà adattato ai paesi africani dove può avere grande utilità per prevenire lo sviluppo di malattie molto gravi: allora quelli che ne beneficeranno probabilmente lo considereranno come un dono dal cielo.

Il profilo genetico individuale

I polimorfismi

Il sequenziamento del genoma può essere paragonato all'esplorazione di una vasta regione alla ricerca di minerali. Vi si rintracciano minerali di cui già si sospettava l'esistenza, ma si scopre anche un minerale inaspettato, quasi un tesoro nascosto. La scoperta di geni e altri tipi di sequenza nel DNA umano nel Progetto Genoma non ha costituito una sorpresa, grazie alle conoscenze già acquisite; il vero tesoro nascosto che è stato rivelato è la presenza di numerose differenze, limitate a una base, tra genomi di individui diversi, senza effetti sull'organismo, ma di enorme utilità per esso.

Prima di parlarne è bene affrontare il problema della nomenclatura. Il termine «polimorfismo» è come al solito derivato dal greco antico, e significa: «molte forme». Esso indica una località nel genoma dove ci sono differenze tra individui diversi, senza che ciò causi una malattia; per questa ragione tali variazioni non sono state identificate con i soliti metodi della genetica umana. Le differenze vengono di solito individuate sequenziando il DNA e paragonando le sequenze che si ottengono da individui diversi. Nel genoma esistono molti tipi di polimorfismi, per esempio i diversi numeri di ripetizioni di gruppetti di 2 o 3 basi, noti come microsatelliti, che sono molto utili per localizzare i geni, altri che trovano impiego in medicina legale, e i polimorfismi che determinano le differenze di proteine presenti nei linfociti, dando luogo ai diversi tipi così importanti per i trapianti. I polimorfismi di cui parliamo ora concernono solo una base, un singolo nucleotide; per questo vennero definiti: *Single Nucleotide Polymorfisms,* abbreviati in SNP. Nel linguaggio comune invece di dire «esse enne pi», si usa un'abbreviazione: SNIP. Adotteremo questo termine per semplicità. Gli SNIP hanno grande importanza per la medicina e per la salute della gente.

Per capire il significato degli SNIP (e di altri polimorfismi) bisogna pensare all'evoluzione del genoma: concentrandoci su di un cromosoma

che ha una certa sequenza, la sequenza iniziale. Con il tempo la moltiplicazione dell'organismo che contiene il cromosoma ne produce molte copie, con sequenze tutte uguali a quella iniziale. Poi, a un certo punto, durante la replicazione del cromosoma in un individuo c'è un errore: una base viene sostituita da un'altra. L'errore non ha conseguenze e perciò persiste; si creano così nella popolazione due gruppi di individui: uno con la base vecchia, l'altro con la base nuova, e la differenza persiste in successive generazioni. In questo modo si è iniziato il primo SNIP.

Di per sé esso non ha grande importanza. Con il tempo si formano altri SNIP, sia sui cromosomi che già contenevano il primo SNIP, sia sugli altri. Dopo un lungo periodo tutta la popolazione dei cromosomi, ora molto numerosa, contiene molti SNIP, sparpagliati sui vari cromosomi; le loro combinazioni possono essere usate per individuare i vari cromosomi, o per determinare come la popolazione dei cromosomi si sia sviluppata attraverso i tempi, perché ogni SNIP viene mantenuto a ogni divisione.

Poi hanno luogo degli scambi tra i DNA dei due cromosomi, per cui l'arrangiamento degli SNIP presenti in ciascuno di essi cambia. Se chiamiamo il primo SNIP A1 (il che denota che esso è localizzato sul cromosoma 1), con il tempo esso sarà affiancato da altri, dando luogo, per esempio, alla fila: A1, B1, C1, D1, E1, F1, G1, dove le lettere denotano i siti dello SNIP. Il cromosoma 2 dello stesso paio avrà anch'esso i suoi SNIP, ma in posizioni differenti: L2, M2, N2, O2, P2, Q2, R2. Uno scambio di parti tra i due cromosomi causa un cambiamento dell'ordine degli SNIP: il cromosoma 1 diventa: L2, M2, //C1, D1, E1, F1, G1, e il cromosoma 2: A1, B1, //N2, O2, P2, Q2, R2, dove // indica il sito dello scambio. In seguito nuovi scambi portano ad altri cambiamenti, e l'ordine degli SNIP su ciascun cromosoma muta. Gli scambi avvengono più facilmente tra SNIP che sono più lontani l'uno dall'altro, mentre quelli più vicini tendono a rimanere sullo stesso cromosoma su cui sono stati prodotti. Perciò ciascuna delle due forme del primo SNIP rimane associata a un segmento del cromosoma.

Relazione tra SNIP e geni

La caratteristica di mantenere la relazione iniziale con il DNA vicino fa di uno SNIP il rappresentante di un segmento di DNA che può variare da 3000 a 100.000 basi; esso perciò rappresenta anche i geni, noti o

sconosciuti, presenti in quel segmento. Questa proprietà ha parecchie importanti conseguenze: una è che rende gli SNIP estremamente utili per identificare i geni umani. Infatti, se un gene con una caratteristica speciale è vicino a uno SNIP noto su un cromosoma, la loro associazione persiste per generazioni, ed è possibile accertare la presenza di quel gene in un cromosoma se esso contiene quello SNIP. Un esempio è dato da un gene che peggiora lo stato dei malati con il morbo di Alzheimer, ApoE, che può esistere in diversi stati identificati con ApoE2, ApoE3 e ApoE4. Il morbo di Alzheimer è dovuto ad alterazioni di alcuni geni già identificati, e probabilmente di altri non ancora noti. Se l'alterazione di questi geni è presente in pazienti che hanno anche il gene ApoE4, la malattia è più grave; ma una persona che ha solo il gene ApoE4, senza nessuno dei geni specifici per l'Alzheimer, non sviluppa la malattia. Il ruolo del gene ApoE4 fu riconosciuto per la frequente presenza nei malati di alcuni SNIP che lo accompagnano. Scoperte di questo genere avranno un forte impatto sulla medicina per la diagnosi e il trattamento delle malattie genetiche.

Risultati di questo tipo hanno spinto i ricercatori ad andare a scoprire molti SNIP. Essi vengono identificati esaminando le sequenze di individui diversi al fine di localizzare punti dove ci siano differenze di una singola base. La posizione degli SNIP nel genoma viene determinata dalle basi che li circondano, che ne permettono una localizzazione del tutto sicura. Il sequenziamento del genoma umano ha portato all'identificazione di un gran numero di SNIP, ottenuti paragonando le sequenze ottenute dal consorzio pubblico con quelle della ditta Celera, che usavano DNA ottenuti da individui diversi. Certamente ne esistono molti altri, che possono essere identificati sequenziando i DNA di vari individui. Si calcola che il genoma umano contenga 10 milioni di SNIP; di questi, 7 milioni sono stati già caratterizzati, e l'informazione relativa è contenuta nelle banche dati. Perciò ogni gene umano può essere identificato dalla sua associazione con un gruppo di SNIP. Molto importante è perciò l'individuazione di questi gruppi che rimangono associati in generazioni successive, perché il gruppo definisce un segmento del genoma molto più lungo che non gli SNIP isolati. Questo permette di assegnare un gene più facilmente a un segmento del genoma, dove può essere successivamente identificato.

Effetti sulla diagnosi di malattie

Queste scoperte avranno un notevole impatto sul trattamento delle malattie ereditarie. È già noto da tempo che pazienti affetti da tali malattie presentano sintomi diversi, talvolta anche in modo notevole; in alcuni casi le ragioni delle differenze sono note, in molti altri no. Quasi certamente esse sono dovute all'intervento di geni ora sconosciuti che non sono direttamente responsabili della malattia, ma che ne influenzano il decorso. Con l'identificazione di molti SNIP nel genoma umano, e l'associazione di alcuni di essi con lo stato della malattia, questi geni diventeranno noti. La loro identificazione permetterà una diagnosi più precisa della malattia, il che sarà molto utile per determinare come ogni paziente debba essere trattato. Perciò gli SNIP tendono a spostare l'attenzione da geni individuali quali responsabili di malattie, verso una caratterizzazione globale dell'attività dei geni, e sugli effetti di differenze di sequenza, prima ritenute prive di significato, sulle loro funzioni.

La grande diffusione degli SNIP nel genoma risolverà finalmente un grande problema della medicina, quello dell'identificazione di tutti i geni responsabili delle malattie ereditarie. Circa il 2% di esse sono dovute principalmente all'alterazione di un singolo gene, che spesso è ormai noto, mentre negli altri casi lo si scoprirà presto, date le tecnologie attuali. Ma la gran maggioranza delle malattie ereditarie, circa il 98%, è dovuta all'alterazione di più geni, la cui identificazione con i metodi finora a disposizione è stata essenzialmente impossibile. Tra queste ci sono, per esempio, la schizofrenia, il diabete, le malattie cardiache e molte altre. Con l'identificazione di un gran numero di SNIP, propriamente localizzati nel genoma, la loro individuazione ora diventa più facile, esaminando lo stato di un certo numero di SNIP nei malati: la presenza frequente di certi SNIP nel loro DNA dimostra che geni vicini a essi hanno un ruolo nella malattia.

SNIP e farmaci: la medicina genetica

Un ulteriore impiego molto utile degli SNIP si prospetta in un altro campo della medicina, quello farmacologico. Anche qui ci sono molte differenze individuali, sia nell'efficacia di diversi farmaci, sia nei loro effetti collaterali, che in certi casi possono essere anche gravi. Per esempio, studi condotti qualche anno fa negli Stati Uniti hanno rivelato

che il 7% dei pazienti ricoverati in ospedale soffriva di reazioni avverse ai farmaci, in alcuni casi mortali. Con ogni probabilità queste differenze sono dovute allo stato di geni coinvolti nel determinare l'azione dei vari farmaci; essi si possono identificare studiando la correlazione di certi gruppi di SNIP con le risposte di molti individui al farmaco. In questo modo si potranno individuare persone che reagiscono in modi anomali a un certo prodotto, prima che ne soffrano le conseguenze, e si potranno produrre nuovi medicinali come modificazioni di quelli esistenti, che li rendano più adatti per individui in cui il farmaco usuale dà dei problemi. Per queste varie ragioni gli SNIP permetteranno lo sviluppo di una nuova scienza, la «farmacogenetica», di cui si tratterà più estesamente più avanti.

SNIP e salute

Gli SNIP avranno anche un ruolo importante nella salute delle persone. Infatti ciò che chiamiamo lo stato di salute deriva dalla confluenza di molti fattori determinati dai geni in combinazione con l'ambiente. Qui molto spesso i geni non sono responsabili individualmente, ma in complessi che possono essere anche molto grandi; l'ambiente agisce nel fornire le condizioni su cui tali complessi di geni agiscono. Gli SNIP danno la possibilità di individuare i geni che fanno parte dei vari complessi; sulla base della loro attività si potrà poi regolare l'ambiente in modo che l'insieme operi nel modo più favorevole all'individuo.

L'effetto variabile dei farmaci è solo un aspetto di queste interazioni. Moltissimi altri elementi della vita hanno effetti sullo stato di salute di un individuo. Tra questi ci sono, per esempio, i cibi che si consumano, il tipo di lavoro, il regime di veglia e sonno, le abitudini come il fumo, l'abuso di bevande alcoliche o l'esposizione al sole. I geni sono responsabili delle conseguenze dell'esposizione a questi fattori, per esempio determinando come i vari componenti dei cibi vengano utilizzati, come varie sostanze vengano modificate chimicamente nell'organismo eccetera. Per esempio, è certo che il fumo del tabacco può produrre gravi danni nell'organismo, ma questo dipende dall'elaborazione dei suoi componenti nell'organismo stesso. Ci sono persone che hanno fumato tutta la vita, e ciononostante non ne patiscono i danni. Ciò dipende dal modo in cui agisce un enzima che genera le sostanze nocive nell'organismo, modificando componenti del fumo del tabacco, e perciò dallo stato del gene che specifica l'enzima: se

l'enzima è poco attivo, il pericolo di danni è molto minore.

Oggi si conoscono alcuni di questi effetti combinati tra geni e ambiente, ma sono ancora solo la punta dell'iceberg. I risultati ottenuti nel passato concernevano geni che agiscono in modo prevalentemente individuale, e perciò se ne osservavano solo gli effetti più marcati. La classificazione di circa mezzo milione di SNIP in ogni individuo permetterà di scoprire l'insieme delle associazioni gene-ambiente, indirizzandosi all'intero genoma anziché a geni individuali. Questo è essenziale perché, sebbene alcuni geni abbiano un effetto specifico riconoscibile, la maggioranza di essi agisce come componente di reti d'interazione; l'uso degli SNIP permette l'analisi delle reti. Gli SNIP determineranno così il «profilo genetico individuale» su cui si baseranno poi le regole di vita dell'individuo.

Geni e farmaci

La produzione di nuovi farmaci è un processo molto complesso ma di grande valore per l'umanità. La difficoltà risiede nella complessità funzionale del genoma, che rende problematico fare predizioni accurate su come si possa modificare un processo biologico, sia esso normale o patologico, che è il ruolo di un farmaco, come è dimostrato da anomalie ben note. Per esempio, il funzionamento totale del genoma spesso non è cambiato da mutazioni di un gene perché la mancanza della funzione di quel gene può essere sostituita da altre funzioni, cioè c'è una «globalizzazione del genoma». E i cambiamenti di una componente del sistema non sono necessariamente accompagnati da cambiamenti in altre componenti associate: così una variazione del livello di un trascritto non indica necessariamente un cambiamento della quantità della proteina corrispondente; una variazione del livello della proteina non implica un cambiamento della sua attività nella cellula; e modificazioni di attività in vitro non vogliono dire cambiamenti nella cellula.

Un concetto fondamentale che risulta dalle conoscenze attuali è che ogni perturbazione nelle cellule dà come risultato una risposta che coinvolge molti geni, molti trascritti, molte proteine. C'è perciò una risposta globale. Come conseguenza l'indirizzo classico di mirare un farmaco all'effetto di un gene non è adeguato; e anche i tentativi di anticipare gli effetti della modificazione dell'attività di un gene non sempre hanno successo.

Per ottenere l'integrazione delle numerose variabili bisogna sviluppare degli indirizzi che includano tutte le variazioni dei sistemi, e tutte le interazioni tra i vari componenti. Essi devono tener conto di tutte le funzioni biologiche - del genoma, del trascrittoma e del proteoma - e le loro conseguenze a livello metabolico e fisiologico. Questo porterà allo sviluppo di farmaci su un piano nuovo, con effetti a siti multipli. Anche l'ingegneria delle proteine, che è parte integrante della produzione di farmaci, deve essere perfezionata: dopo uno stadio in cui si disegnavano cambiamenti localizzati basati su quel che si sapeva della relazione struttura-funzione, oggi bisogna usare un approccio più sperimentale:

alterare la struttura e poi determinare gli effetti sull'attività della proteina in relazione alla molteplicità di effetti di ogni cambiamento. Questo richiede non solo esperimenti adeguati, ma anche un'analisi globale dei risultati, aiutata da computer con sofisticati programmi.

Farmaci con azione globale non sono ancora stati prodotti: essi saranno il compito del futuro. In genere, i farmaci che abbiamo oggi sono ancora limitati ad alterazioni specifiche, ma il cammino è aperto verso medicine più «intelligenti».

Farmaci derivati dallo studio dei geni

Nel passato molti dei farmaci erano prodotti sulla base di conoscenze empiriche, spesso di natura tradizionale, come quelle di sostanze derivate da piante di vario tipo, a cui si potevano attribuire poteri curativi per certi sintomi. Un esempio tipico è l'aspirina, nata dalla conoscenza dell'azione antidolorifica di estratti della corteccia del salice, in cui si identificarono le sostanze responsabili, che furono denominate «salicilati». Questi ebbero degli effetti utili per controllare dolori muscolari e articolari; però avevano anche degli svantaggi. Ciò spinse un'industria farmaceutica a modificare la molecola, che così diventò l'aspirina. Il progredire delle conoscenze di biochimica e del ruolo di sostanze prodotte da esseri viventi in processi fisiologici o morbosi, aprì nuove vie per scoprire nuovi farmaci. Un esempio sono gli antibiotici, che sono prodotti da microorganismi e poi vengono purificati o modificati chimicamente per renderli più adatti come farmaci. In tempi più recenti, con l'aumentare delle conoscenze sui geni e sulle funzioni di alcuni dei loro prodotti, per esempio ormoni, e con lo sviluppo dell'ingegneria genetica, è diventato possibile usare prodotti di geni come farmaci, per esempio l'ormone umano della crescita, l'insulina umana o l'eritropoietina.

Questo campo è ora soggetto a un'enorme espansione a causa dell'aumento spettacolare delle conoscenze dei geni umani e delle connessioni tra la costituzione delle proteine e le loro funzioni nell'organismo. La base di partenza di questo sviluppo è che la costituzione di una proteina, cioè la sequenza degli amminoacidi che la compongono, è specificata senza ambiguità dalla sequenza delle basi del messaggero che ne causa la formazione, e che questa, a sua volta, riproduce una parte o la totalità delle regioni codificanti del gene. Perciò si può partire dal gene per

determinare quali siano i tipi di proteine a cui esso può dar luogo, in termini di sequenza di amminoacidi.

Tali sequenze, come sappiamo, non permettono di dedurre la struttura tridimensionale della proteina, che determina la sua funzione. Ma oramai c'è nelle banche dati un'abbondante collezione di proteine con funzione nota, per cui è possibile prevedere, con buona accuratezza, la funzione di una proteina sconosciuta sulla base delle somiglianze che la sua sequenza ha con quella di proteine note. Perciò si è già nella condizione di andare a «minare» il genoma per geni con importanti funzioni nell'organismo, che possono essere coinvolti in disturbi di varia natura, in modo che si possano sviluppare farmaci per influire sulla loro azione, o a livello del gene o, più comunemente, della proteina.

Molto importanti, sia per il loro numero sia per le loro funzioni, sono i geni le cui proteine formano dei ricettori, cioè proteine situate a cavallo della membrana esterna della cellula, che, con la parte esterna della cellula, ricevono segnali da molecole circostanti e li trasmettono entro la cellula per mezzo di variazioni o di struttura o di attività biochimiche della loro parte interna; poi questa trasmette il segnale ad altre catene di proteine, che infine causano cambiamenti delle attività della cellula.

Un'altra classe di proteine importanti è quella con funzione catalitica, cioè «enzimi», che trasmettono segnali modificando la proteina successiva nella catena, per esempio con l'addizione di gruppi di fosfato che, a causa della loro forte carica elettrica, provocano importanti modificazioni di struttura.

Sostanze disegnate sulla base della struttura di una proteina spesso costituiscono farmaci efficienti, generalmente mirati a un processo morboso specifico. Un esempio recente di tale processo è la produzione del farmaco Gleevec, che è diretto contro una forma di leucemia, la leucemia mieloide cronica, di cui abbiamo parlato nella sezione dedicata al cancro. Il farmaco blocca l'azione di un enzima che attacca un gruppo di fosfato a proteine; esso è il prodotto di un gene anormale con le proprietà di un oncogene, risultante dallo scambio di parti tra due cromosomi. Il farmaco fu pianificato sulla base della struttura dell'enzima, e sfrutta la proprietà dell'enzima di oscillare tra uno stato attivo, in cui trasferisce il fosfato, e uno inattivo; la struttura dell'enzima è diversa nei due stati. Il farmaco si lega all'enzima quando è nello stato inattivo, bloccando la transizione successiva allo stato attivo, e così lo mantiene permanentemente in condizione di inattività.

Questo farmaco non ha applicazione generale nel cancro, ma è importante, perché è la prima volta che una forma tumorale può essere arrestata usando un farmaco costruito espressamente. Il farmaco ha notevole specificità perché colpisce quel particolare enzima, e non i molti altri enzimi che nell'organismo hanno la stessa funzione di trasferimento di fosfato, ma agiscono su altre proteine. La specificità è possibile perché, sebbene tutti questi enzimi abbiano delle caratteristiche strutturali comuni che sono necessarie per la loro azione, essi variano leggermente nelle strutture circostanti, in modo che ciascun enzima è specifico per una certa proteina. La specificità del farmaco Gleevec è basata su queste fini differenze di struttura.

Ci sono altri esempi di farmaci pianificati su una struttura proteica, tra cui alcuni che bloccano una proteina essenziale per il virus dell'AIDS; ma essi sono ancora in piccolo numero. Con l'aumento delle conoscenze della struttura delle proteine e delle loro funzioni, che si svilupperanno nei prossimi anni sulla base delle conoscenze sul genoma, il progetto di nuovi farmaci diventerà più efficiente, e i farmaci stessi saranno più sofisticati e più adatti a rimediare i sintomi per cui sono progettati.

Il topo Mitridate

Le aziende farmaceutiche, nel produrre un nuovo farmaco, devono affrontare il problema di come esso verrà accettato nel corpo umano. Infatti ci sono reazioni che portano alla rapida eliminazione di certi farmaci. E in aggiunta ci sono anche speciali interazioni tra farmaci diversi, che portano all'eliminazione rapida di uno di essi. Questo era un problema molto difficile da risolvere, perché non c'era un modello animale adeguato in cui determinare se un farmaco sarà tollerato o no nell'uomo.

Questo era vero fino a poco tempo fa. Oggi invece il problema è risolto dalla creazione del topo Mitridate. Mitridate era un antico re che, avendo timore di essere avvelenato dai suoi nemici (o amici), senza dirlo a nessuno prese l'abitudine di inghiottire piccole dosi di veleni allora a disposizione, per cercare di suscitare nel suo corpo difese contro di essi. Ed ebbe successo: cercarono infatti di avvelenarlo, ma non ci riuscirono, perché aveva veramente sviluppato una difesa contro il veleno.

Il segreto del successo è un gene presente negli esseri umani, che causa la formazione di una sostanza appartenente, chimicamente, allo stesso

gruppo degli ormoni sessuali femminili. Quando questo gene è attivo la sostanza viene prodotta nelle cellule del fegato e dell'intestino; se essa riconosce una sostanza estranea, come un farmaco, attiva un enzima che la elimina. Perciò il gene agisce come una macchina che rimuove l'immondizia.

Le aziende farmaceutiche vorrebbero usare questo sistema per verificare se un loro farmaco in via di sviluppo è considerato immondizia o no. Però c'è un problema, perché il gene spazzino, che esiste sia nell'uomo sia in altre specie, non produce le stesse sostanze in tutte le specie. Come conseguenza, non c'era un animale in cui fosse possibile verificare se un farmaco è accettabile all'uomo. L'animale di solito usato per fare verifiche di questo tipo era il topo, ma il suo gene agiva molto diversamente da quello umano.

Ora, finalmente, il problema sembra risolto: i ricercatori che hanno identificato il gene umano sono riusciti a immetterlo nel topo, dopo averlo modificato in modo da renderlo attivo permanentemente, creando il topo Mitridate. Quando un farmaco è dato a tali topi, si comporta come se fosse nell'uomo. Perciò le aziende farmaceutiche oggi hanno modo di sapere se un farmaco in via di sviluppo è accettabile, e lo possono scoprire abbastanza presto, prima di investire somme favolose nel suo sviluppo, somme che andrebbero perdute se poi venisse accertato che il farmaco è incompatibile. Questo è un vantaggio per le aziende, ma è anche un vantaggio per i pazienti, perché, se un farmaco si dimostra incompatibile, lo sforzo può essere orientato ad altre sostanze con azione simile, ma che sono accettabili all'organismo umano.

La farmacogenetica

Un risultato importante dello studio del genoma, che tiene conto dell'indirizzo globale, è l'avvento di una nuova scienza, la farmacogenetica, che porterà alla produzione di farmaci più mirati alle necessità dell'individuo.

La farmacogenetica è la scienza che studia la connessione tra risposte ai farmaci e geni. Questo studio è stato promosso dai risultati di osservazioni cliniche, che dimostrano forti variazioni nella risposta di individui diversi allo stesso farmaco, specialmente se appartenenti a gruppi etnici diversi. In genere, studi con qualunque farmaco mostrano l'esistenza tanto di pazienti

che non rispondono a esso, quanto di altri che rispondono in modo eccessivo o anomalo, spesso anche pericoloso.

Per esempio, ci sono parecchi tipi di farmaci diretti al trattamento dell'asma che danno risposte molto varie. Quasi sempre una metà dei pazienti non reagisce a uno dei farmaci, a causa di differenze genetiche. Questo avviene perché l'asma può essere prodotta da vari fattori, e i farmaci sono diretti a essi e non ai sintomi della malattia. Nel passato, le ragioni di risposte così diverse non si potevano identificare, dipendendo da differenze dell'attività di geni allora sconosciuti, oppure di geni noti la cui partecipazione al quadro morboso contro cui si usava il farmaco era oscura. Un caso di questo genere è quello delle donne che hanno un'alterazione di un fattore di coagulazione del sangue (il fattore V Leiden): quando prendono un contraccettivo orale possono avere una crisi di coagulazione, molto pericolosa, nelle vene del cervello. Perché questo avvenga non lo sappiamo. Infatti non si capisce che ruolo abbia il contraccettivo nel causare la coagulazione, non si conosce come l'effetto sia legato a quel particolare gruppo sanguigno, o perché la coagulazione avvenga nelle vene del cervello e non in quelle di altre parti del corpo. Non ci sono risposte a queste domande.

Questa scarsezza di conoscenze sembra sorprendente, perché le case farmaceutiche, prima di mettere in commercio un farmaco, lo studiano estesamente, per determinarne sia l'efficacia sia gli effetti collaterali. Ma la ragione può essere identificata nel fatto che questi esami mirano a stabilire quale sia la risposta media in un numero abbastanza grande di persone. Non si va alla ricerca di risposte individuali, in parte perché nel passato tale informazione non si poteva ottenere, non essendo possibile distinguere gli individui in modo significativo dal punto di vista genetico. Ora, con la conoscenza estesa del genoma, è possibile caratterizzare l'individuo in questo modo, sulla base del suo profilo genetico, usando i moltissimi polimorfismi già individuati, specialmente gli SNIP. Nel futuro il farmaco non sarà provato su popolazioni anonime, ma su gruppi di persone in cui molti geni hanno attività simile, in modo da poter individuare risposte particolari in individui con un certo tipo di genoma. In questo modo nei prossimi anni diventerà possibile mettere in atto una «medicina personalizzata», che tenga conto delle tendenze del singolo determinate dai suoi geni.

Però c'è ancora molto da fare: bisognerà vedere quali sono i polimorfismi più utili, specialmente gli SNIP: se quelli localizzati nei geni,

che possono essere causa di differenze di attività genica, o quelli situati fuori dei geni, che sono associati con vari geni, ma non ne influenzano l'attività. Bisognerà anche identificare nel genoma umano un numero adeguato di SNIP con le caratteristiche adatte per coprirlo tutto. Ciò richiederà molto lavoro, ma il successo è garantito perché c'è molto interesse al problema.

Il problema della brevettabilità dei geni

La produzione di un farmaco è un processo molto impegnativo e costoso. L'esperienza negli Stati Uniti mostra che dal momento della scoperta che porta al farmaco alla messa sul mercato del farmaco stesso passano una diecina d'anni di intenso lavoro, con costi astronomici. Perciò una ditta può intraprendere un tale sforzo solo se poi le entrate provenienti dalla vendita del farmaco permetteranno di recuperare i costi sostenuti, con qualche guadagno. Per ottenere ciò la ditta deve essere sicura che nessun altro potrà fabbricare e vendere lo stesso prodotto; questo richiede una protezione legale, perché altrimenti sarebbe abbastanza facile riprodurre lo stesso farmaco e venderlo più a buon mercato. Questa protezione viene conferita dal brevetto.

Brevetti su prodotti chimici e fisici sono stati usati per molti anni, senza grandi contestazioni. I brevetti vengono concessi da appositi uffici che esistono in tutti i paesi, sulla base di certe linee guida: per esempio, che il prodotto sia basato su un'invenzione, che il procedimento per ottenerlo sia nuovo, e che il prodotto abbia provata utilità. Quando più recentemente sono stati preparati farmaci e altri prodotti derivati da conoscenze genetiche, le cose sono diventate più complicate. Il primo caso fu il brevetto di uno stipite di topi transgenici, cioè con un oncogene introdotto inizialmente nel genoma del topo fondatore dello stipite, e che come risultato sviluppano regolarmente un cancro quando raggiungono una certa età. Questi topi sono molto utili per la ricerca sul cancro. Quando si fece domanda per brevettarli, si incontrarono forti resistenze perché era la prima volta che si chiedeva il brevetto su un essere vivente, e ciò suscitava problemi specialmente di natura filosofica; ma questa difficoltà fu infine superata. Il brevetto fu approvato perché il prodotto, il topo transgenico, soddisfaceva le linee guida sopra indicate.

Con l'aumento della conoscenza sui geni il problema è ritornato sotto

un'altra forma. Per certe applicazioni di queste conoscenze non ci sono difficoltà: per esempio, ormoni umani da usarsi come farmaci sono già stati brevettati. Gli ormoni sono preparati in un sistema artificiale da geni umani che sono stati clonati e adattati al nuovo sistema. Perciò quegli ormoni soddisfacevano le linee guida perché la procedura per ottenere i prodotti era un'invenzione e i prodotti erano farmaci di provata utilità.

Problemi nuovi stanno insorgendo ora a causa dell'estesa conoscenza sui geni prodotta dal Progetto Genoma, nonché delle ampie cognizioni sulla struttura delle proteine e sulla relazione tra queste strutture e le funzioni delle proteine. È infatti possibile usare computer con programmi molto avanzati per identificare i geni e per comprenderne la funzione. Per esempio, è possibile individuare con buona probabilità di successo geni che danno origine a ricettori, e anche specificare quali tipi di ricettori, senza però poter conoscere quale sia la molecola a cui si legano, e quali effetti abbiano sulla funzione delle cellule. Si sono fatte molte domande di brevetto basate su queste esplorazioni del genoma, e in parte esse sono state approvate. Questo è sorprendente, perché esse non soddisfano le linee guida: non c'è invenzione, al massimo una scoperta, il che è molto diverso; il metodo per ottenere il risultato può essere ritenuto banale, perché richiede principalmente l'acquisto del computer e del programma (sebbene quest'ultimo sia spesso perfezionato); e, infine, non c'è nessuna prova di utilità del prodotto.

Il vero problema insorge poi quando un ricercatore si dedica allo studio di un gene che specifica un ricettore e, dopo lungo lavoro, riesce a dimostrare quale sia la sua funzione, con quale molecola si unisca, quale sia la conseguenza delle sue modificazioni. Il ricercatore fa domanda di brevetto, che gli viene rifiutato perché è già stato assegnato a un esploratore del DNA che non sapeva nulla del ruolo di quel ricettore. Questo è un grave problema che richiede una rivalutazione delle procedure adottate per concedere un brevetto su un gene.

Il valore della speranza

Come abbiamo visto nelle pagine precedenti, la mappatura del genoma umano offre la possibilità di nuove importanti conquiste in molti campi della biologia e della medicina. Possiamo sperare, ragionevolmente, di poter presto prevenire le malattie genetiche ereditarie, di diagnosticarle in tempo utile, e di sviluppare terapie che le curino o ne attenuino le conseguenze; possiamo capire meglio le origini e i pericoli di altre malattie, e trovare per esse nuovi metodi di cura, come quello basato sull'uso di cellule staminali per le malattie degenerative; si produrranno nuovi farmaci, non più empirici, ma progettati per modificare l'azione di geni specifici mirati alle necessità di ciascun individuo. L'estensione delle conoscenze ad altri genomi migliorerà le difese contro malattie infettive e parassitarie, e svilupperà prodotti utili a migliorare lo stato di salute e nutrimento degli abitanti dei paesi poveri.

La conoscenza dei geni applicati non ci dà delle risposte definitive, ma apre nuove strade; quel che si otterrà dipende dall'impegno della ricerca e dagli investimenti che si faranno. Però il cambiamento di cui siamo testimoni è drammatico: fino a ora era come se fossimo circondati da un alto muro, dalle crepe del quale potevamo intravedere il ricco paesaggio circostante; ma ora il muro è stato abbattuto, e vediamo le strade inesplorate che si addentrano in quel paesaggio. Ora sta a noi scegliere quali esplorare.

La conoscenza del genoma è una delle grandi speranze dell'umanità. Tutta la vita è speranza. L'importante è non distruggerla con atteggiamenti dogmatici che impediscono il progredire delle conoscenze. Un esempio è l'accanimento contro le modificazioni genetiche di piante e animali, che nel passato, con mezzi molto semplici, hanno già apportato enormi benefici per l'umanità; ora si vorrebbe impedire l'applicazione di mezzi più avanzati, che potrebbe portare a risultati ancora più notevoli. Un altro esempio è la polemica sull'uso di embrioni umani soprannumerari per ottenerne delle cellule staminali. Tale polemica divide gli scienziati laici, che sono favorevoli al loro uso, dall'opinione pubblica cattolica, che non

permette l'uccisione dell'embrione. Gli scienziati ritengono che usare embrioni destinati a morte certa sia legittimo per ricerche che hanno scopi altamente umanitari. I cattolici credono che la vita umana cominci al momento del concepimento, e perciò considerano questi embrioni esseri umani, che non possono essere uccisi per nessun motivo; la proposta di utilizzarli perché comunque destinati a morire non li convince, in quanto lasciar morire è diverso da uccidere.

In questa discussione si potrebbe proporre un nuovo argomento, basato sul valore della speranza. Quando due persone vogliono avere un figlio, hanno in fondo una speranza: di avere un bambino, che crescerà formando con loro una famiglia, e ne farà parte per sempre, e avrà successo nella vita. Se non riescono ad avere il bambino, la loro speranza è morta. Ma la tecnologia può farla rinascere attraverso la fecondazione in vitro. Alcuni embrioni vengono introdotti nell'utero della madre: essi sono la nuova speranza. Quelli che rimangono (gli embrioni sovrannumerari) non hanno essenzialmente prospettive di vita: vengono congelati ma, con il passare degli anni, sono destinati a morire. Essi però possono rappresentare una nuova speranza per i pazienti colpiti da malattie per cui non c'è possibilità di cura. Le loro aspettative spingono i ricercatori a usare le cellule ottenute da questi embrioni. In tal modo la speranza iniziale che ha portato alla creazione degli embrioni risorge in una forma diversa, a favore degli ammalati che si immaginano curati.

La speranza è il centro della vita. Non varrebbe la pena vivere se non ci fosse. Non distruggiamola. Il Progetto Genoma è il risultato di una grande speranza. Nessun dogma può ignorarne il valore fondamentale; mantenere viva la speranza è la cosa più importante che si può fare.